



**Maria da Glória Ribeiro Pereira**   **Efeito da radiação de microondas em microrganismos**



**Maria da Glória Ribeiro Pereira**   **Efeito da radiação de microondas em microrganismos**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Física Aplicada, realizada sob a orientação científica do Dr. Luís Cadillon Costa Professor Associado do departamento de Física e co-orientação pelo Dr. António Correia, Professor Associado com Agregação do Departamento de Biologia, ambos da Universidade de Aveiro.

## **o júri**

presidente

**Prof. Dr. João de Lemos Pinto**  
Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

vogais

**Prof. Dr. António Correia**  
Professor Associado com Agregação da Universidade de Aveiro

**Prof. Dr. Luís Manuel Cadillon Martins Costa**  
Professor Associado da Universidade de Aveiro

**Prof. Dr. Francisco José Ares Pena**  
Professor Titular da Universidade de Santiago de Compostela

## **agradecimentos**

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Luís Cadillon Costa, pela sua disponibilidade, paciência, preocupação e apoio, pois sem ele não teria conseguido concretizar a tese.

Uma palavra de apreço para o meu co-orientador, Professor Doutor António Correia, pelo seu apoio científico na área da Microbiologia, simpatia e boa disposição.

À Maria João Carvalho, que me acolheu no laboratório e me deu a conhecer as técnicas de microbiologia utilizadas no decorrer do trabalho experimental, fica igualmente um agradecimento sincero.

À Ana Maria Rocha, ao João Cascalheira e ao Jorge Monteiro, pela inquestionável disponibilidade e importante ajuda nas técnicas experimentais desenvolvidas durante este trabalho.

Por fim, quero agradecer à minha família e amigos, pelo apoio incondicional.

## palavras-chave

Radiação electromagnética; Microondas; *E. coli*; Inativação microbiana

## resumo

O efeito da radiação electromagnética não ionizante nos sistemas biológicos é, hoje em dia, objecto de importantes estudos.

Este trabalho tem como objectivo investigar os efeitos da energia de microondas em microrganismos, bem como a possibilidade de usar essa radiação para esterilização a baixas temperaturas. Pretende-se assim que, a utilização de radiação de microondas para a esterilização de alimentos seja feita a temperaturas em que se mantenham o sabor e valor nutricional daqueles.

Foi investigado o efeito da radiação electromagnética na bactéria *Escherichia coli*, utilizando uma radiação de 2,45 GHz.

Foram usados dois métodos diferentes: um forno de microondas comercial e uma cavidade ressonante no modo fundamental. O tempo de radiação foi controlado através de um temporizador acoplado ao magnetron. A energia do campo eléctrico é mantida baixa, no sentido de preservar a temperatura inferior à temperatura de inactivação dos microrganismos. O trabalho inclui métodos de enumeração microbiana para estudar a inactivação das células do organismo usado como modelo.

Conclui-se que é possível, usando potências baixas, obter uma esterilização eficaz, evitando o aquecimento dieléctrico e preservando a temperatura adequadamente. Estas técnicas revelam-se assim uma boa alternativa aos processos de esterilização usuais.

**keywords**

Electromagnetic radiation; Microwaves; *E. coli*; Microbial inactivation

**abstract**

The effect of the nonionising radiation in biologic systems is, nowadays, an important subject of study.

The purpose of this work is to investigate the effects of the microwaves energy on microorganisms and the possibility of using that radiation for sterilization at low temperature. We pretend then that, the use of microwave radiation to sterilize food was done at temperatures that maintain the flavor and nutritional quality of food.

We studied the effect of the electromagnetic radiation on *Escherichia coli*, using a radiation of 2,45 GHz.

We used two different methods: a commercial microwave oven and a resonant cavity in the fundamental mode. A timer coupled to the magnetron permits to control the time intervals of radiation. The applied electric field power is maintained sufficiently low, in order to preserve the temperature below the inactivation temperature of the microorganisms. The work includes methods of microbial enumeration to study the inactivation of cells from the model organism.

We conclude that it is possible, using low power electric fields, to obtain an effective sterilizing action, avoiding dielectric heating. These techniques are then a real alternative to the usual sterilization processes.

## Prefácio

A utilização da radiação de microondas tem inúmeras aplicações nos nossos dias, desde os fornos de microondas até as telecomunicações. Assim, desde há alguns anos a esta parte, que a interacção entre os campos electromagnéticos e os vários processos vivos têm vindo a intrigar a comunidade científica.

Tendo em conta esta polémica, os objectivos principais deste trabalho consistem numa primeira parte em estudar o efeito da radiação de microondas em bactérias da espécie *Escherichia coli* e posteriormente estudar a possibilidade de aplicar esta radiação para esterilização, evitando o aquecimento. Pretende-se assim, a esterilização de alimentos para temperaturas inferiores, evitando que os alimentos percam sabor e propriedades nutricionais.

Assim, esta tese está organizada em 5 capítulos, no primeiro dos quais é feita uma nota introdutória, onde é referida a motivação e o enquadramento do trabalho. No segundo capítulo é descrita uma síntese bibliográfica que serviu de suporte para o trabalho realizado. No capítulo seguinte é descrita toda a parte experimental do trabalho, no que diz respeito, ao material utilizado, bem como os procedimentos adoptados, no quarto capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos. Segue-se um capítulo onde são expostas as conclusões obtidas.

# Índice

1. Introdução -----	10
Bibliografia -----	16
2. Síntese teórica -----	18
2.1. Ondas electromagnéticas -----	19
2.1.1. Equações de Maxwell -----	19
2.1.2. Espectro electromagnético -----	21
2.1.3. Características da radiação de microondas -----	23
2.1.4. Propagação das ondas electromagnéticas -----	23
2.2. Guia de onda -----	25
2.3. Cavidade ressonante -----	29
2.4. Interação da radiação electromagnética com a matéria -----	33
2.5. Interação da radiação de microondas com microrganismos -----	35
2.6. Profundidade de penetração -----	36
Bibliografia -----	38
3. Parte experimental -----	39
3.1. Introdução -----	40
3.2. Forno de microondas -----	40
3.3. Cavidade ressonante -----	43
3.4. Potência fornecida à amostra na cavidade -----	46
3.5. Cultura de bactérias -----	48
3.6. Controlador de tempo -----	52
3.7. Métodos de determinação da permitividade complexa da cultura de bactérias -----	55
3.7.1. Método de espectroscopia de impedâncias -----	55
3.7.2. Método da cavidade -----	57
Bibliografia -----	59
4. Apresentação e discussão dos resultados -----	60



4.1. Forno de microondas -----	61
4.2. Cavityde ressonante -----	65
4.3. Caracterização eléctrica das soluções -----	68
4.3.1. Baixas frequências -----	68
4.3.2. Microondas -----	70
Bibliografia -----	72
5. Conclusão -----	73

## Lista de símbolos

$\vec{E}$  , vector campo eléctrico  
 $\rho_f$  , densidade de cargas livres  
 $\rho_b$  , densidade de cargas ligadas  
 $\vec{P}$  , vector polarização eléctrica  
 $J$  , densidade total de corrente  
 $J_c$  , densidade de corrente de condução  
 $J_d$  , densidade de corrente de deslocamento  
 $\vec{M}$  , vector magnetização  
 $c$  , velocidade da luz no vazio  
 $\varepsilon_0$  , permitividade do vazio  
 $\varepsilon_r$  , permitividade relativa  
 $\varepsilon$  , permitividade absoluta  
 $\mu$  , permeabilidade absoluta  
 $\mu_r$  , permeabilidade relativa  
 $\mu_0$  , permeabilidade do vazio  
 $\tan \delta$  , tangente de perdas  
 $\vec{B}$  , vector campo magnético  
 $\vec{H}$  , vector densidade de fluxo magnético  
 $\vec{D}$  , vector deslocamento  
 $h$  , constante de Plank  
 $\lambda$  , comprimento de onda  
 $\vec{S}$  , vector de Poynting  
 $C$  , capacidade  
 $R$  , resistência  
 $\sigma$  , condutividade  
 $\omega$  , frequência angular  
 $Z$  , impedância  
 $c_p$  , capacidade térmica mássica da água  
 $P_M$  , potência fornecida pelo microondas  
 $\Delta T$  , variação da temperatura

$\Delta t$  , variação do tempo  
 $S_{mn}$  , relação entre o sinal recebido e o sinal emitido  
 $v$  , velocidade de propagação da onda  
 $N$ , número de bactérias sobreviventes  
 $N_0$ , número de bactérias inicial  
 $\sigma_l$  , densidade superficial de carga eléctrica  
 $Q$ , quantidade de energia convertida em calor  
 $P$ , energia à profundidade de penetração  
 $P_0$ , energia incidente  
 $\alpha$  , constante de atenuação  
 $d$ , profundidade de penetração  
 LA, Luria, agarizado  
 LB, Luria Broth  
 $h$ , altura  
 $r$  , raio dos eléctrodos  
 $Q$  , factor de qualidade  
 $f_0$  , frequência fundamental  
 $W$ , largura de banda da cavidade à frequência de ressonância  
 $\Delta f$  , variação da frequência de ressonância  
 $\Delta Q$  , variação do factor de qualidade  
 $K$ , factor de despolarização

## Lista de figuras

Figura 2.1 – Esboço de uma onda electromagnética plana monocromática, sendo $\vec{S} = \vec{E} \times \vec{H}$ , na direcção de propagação .....	20
Figura 2.2 – Espectro electromagnético e exemplo de ordens de grandeza associados .....	21
Figura 2.3 – Espectro electromagnético dividido em bandas .....	22
Figura 2.4 – Comportamento de uma onda electromagnética num meio material .....	24
Figura 2.5 – Guia de onda rectilíneo com secção recta de forma arbitrária ...	25
Figura 2.6 – Cavidade rectangular de dimensões $a \times b \times c$ .....	30
Figura 2.7 – Rotação de dipolo devido à mudança de campo .....	33
Figura 2.8 – $\varepsilon''$ versus frequência para diferentes formas de água .....	35
Figura 3.1 – Interior do forno de microondas utilizado .....	41
Figura 3.2 – Campo eléctrico no interior do forno de microondas vazio .....	41
Figura 3.3 – Campo eléctrico no interior do forno de microondas na presença das bactérias .....	42
Figura 3.4 – Distribuição do campo eléctrico no interior da cavidade a (3 D) .	44
Figura 3.5 – Distribuição do campo eléctrico no interior da cavidade a (2 D) .	44
Figura 3.6 – Esquema da cavidade ressonante rectangular de 2,45 GHz.....	45
Figura 3.7 – Cavidade ressonante acoplada ao atenuador .....	46

Figura 3.8 – Antena de microondas .....	47
Figura 3.9 – Atenuação para diferentes cargas .....	48
Figura 3.10 – Preparação de cultura de <i>E. coli</i> ATCC 25922 em meio LB .....	50
Figura 3.11 – Preparação do pré-inóculo de <i>E. coli</i> .....	50
Figura 3.12 – Diluição da cultura bacteriana em NaCl a 0,9 %.....	50
Figura 3.13 – Diluição da cultura bacteriana .....	51
Figura 3.14 – Sementeira das células bacterianas em meio de cultura sólido (LA) .....	51
Figura 3.15 – Colónias de bactérias sobreviventes à radiação de microondas .....	51
Figura 3.16 – Controlador electrónico do tempo de funcionamento do forno de microondas .....	52
Figura 3.17 – Esquema eléctrico do “timer” 555 .....	53
Figura 3.18 – Diagrama de blocos do controlador de tempo .....	55
Figura 3.19 – Sistema de medida da permitividade da cultura de bactérias ...	56
Figura 3.20 – Transmissão da cavidade vazia e com duas amostras diferentes .....	58
Figura 4.1 – Diagrama de blocos do sistema de exposição .....	62
Figura 4.2 – Fracção de bactérias sobreviventes ao logo do tempo de exposição à radiação de microondas .....	62

Figura 4.3 – Temperatura atingida pela suspensão bacteriana ao longo do tempo de exposição à radiação de microondas .....	64
Figura 4.4 – Diagrama de blocos do sistema de exposição .....	65
Figura 4.5 – Fracção de bactérias sobreviventes em função do tempo de exposição com diferentes potências de radiação incidente .....	66
Figura 4.6 – Representação semi-logaritmica dos resultados para diferentes potências da radiação incidente .....	67
Figura 4.7 – Parte real da permitividade da cultura bacteriana em função da frequência aplicada .....	69
Figura 4.8 – Parte imaginária da permitividade da cultura bacteriana em função da frequência aplicada .....	69
Figura 4.9 – Espectro para a cavidade vazia, preenchida com PTFE e preenchida com a cultura de bactérias .....	70

## Lista de tabelas

Tabela III.1 – Tempos ( $\tau$ ) controlados pelo temporizador .....	54
Tabela IV.1 – Contagem do número de colónias bacterianas para a diluição $10^{-5}$ .....	61
Tabela IV.2 – Contagem do número de colónias bacterianas para a diluição $10^{-7}$ .....	61
Tabela IV.3 – Constantes da regressão polinomial .....	63
Tabela IV.4 – Parâmetros da equação de ajuste dos pontos experimentais .....	68
Tabela IV.5 – Permittividade do PTFE e da cultura de bactérias .....	71

# 1.Introdução



# 1. Introdução

---

A energia electromagnética na região de microondas (300 MHz a 300 GHz) tem sido extensivamente estudada como uma fonte de energia alternativa para a esterilização (Banik S., 2003).

A radiação de microondas tem enormes aplicações no nosso dia-a-dia, desde sistemas de comunicação, passando por aplicações médicas, até ao nível industrial (Paulraj R., 2006).

No domínio das telecomunicações, a radiação de microondas não é utilizada como um vector de energia, mas como onda portadora de informação. No caso dos telemóveis por exemplo, os campos electromagnéticos utilizam uma gama de frequências dos 850 a 1900 MHz. Em radares, a radiação de microondas permite a aquisição de uma determinada informação, que está contida no eco de um determinado alvo. Este possui várias aplicações, quer em detectores (por exemplo detectores de excesso de velocidade), aplicações médicas (por exemplo, aparelhos que permitem estudar pequenos movimentos de um pé, através da detecção de sinais vindos do pulso do sangue arterial), astronomia (por exemplo, radares de grandes pulsos que permitem medir distâncias planetárias e velocidades de rotação) (Gardioli F., 1985).

A nível médico, a radiação de microondas é utilizada em hipertermia. A utilização do calor é um procedimento terapêutico usual da medicina. Para tratamentos térmicos em profundidade, por exemplo para aquecer junções duras ou músculos, são utilizadas radiações de radio-frequências (13, 27 e 40 MHz), ultra-sons ou microondas. A hipertermia foi introduzida em 1947, e é utilizada em várias áreas da medicina, como ortopedia (tratamento de artroses, artrites, ciática, reumatismo articular), medicina interna (asma, bronquite), dermatologia, medicina dentária e oftalmologia (Gardioli F., 1985).

A nível industrial, a radiação de microondas é utilizada devido à sua capacidade de induzir um aumento rápido da temperatura. Uma das aplicações mais conhecidas das microondas é o aquecimento dos materiais através da utilização dos fornos de microondas. Um magnetron, que opera em Portugal à frequência de 2,45 GHz, gera microondas com a potência que varia entre alguns mW e kW, dependendo da sua aplicação. Este está conectado por um guia de onda à cavidade ressonante (forno), que contém o material a ser aquecido ou seco (comida, madeira, plástico, químicos, têxteis, etc...) (Gardioli F., 1985).

Dada a enorme aplicação da radiação de microondas, existe uma procura para entender quais os efeitos dessa radiação nos vários organismos.

Os principais efeitos biológicos das ondas electromagnéticas não-ionizantes podem genericamente ser divididos em dois grupos, o de efeitos térmicos e o de efeitos não térmicos. Deles o efeito térmico possui uma aceitação universal do ponto de vista científico, enquanto que parte dos efeitos não térmicos, são ainda muito controversos (Banik S., 2003).

Os efeitos térmicos são aqueles que produzem um aumento de temperatura nos tecidos. De um modo geral, estes efeitos são responsáveis por um aquecimento directo dos tecidos biológicos como resultado da absorção da energia electromagnética num meio dissipativo, como são os tecidos vivos (Banik S., 2003).

Ao contrário das radiações com comprimento de onda menores, como por exemplo o infravermelho, as radiações das microondas e radiofrequência, não são somente absorvidas pela pele, mas também, dependendo da frequência, são absorvidas em camadas mais profundas de tecidos. Uma vez que os sensores de temperatura do corpo humano estão localizados somente na pele, efeitos prejudiciais aos tecidos podem ocorrer devido a aquecimentos excessivos em regiões mais profundas, sem serem percebidos pelas pessoas.

Os efeitos não térmicos são efeitos bioquímicos ou electrofísicos causados pelos campos electromagnéticos induzidos, e não directamente por um aumento localizado ou distribuído de temperatura. Alguns efeitos não térmicos reportados na literatura incluem efeitos nos sistemas nervoso (Crouzier D., 2006; Babincová M., 2004; Paulraj R., 2006), cardiovascular e imunológico (Crouzier D., 2006), bem como no metabolismo e em factores hereditários (Banik S., 2003).

No entanto, nestas áreas os resultados ainda são polémicos, não existindo conclusões definitivas, podendo ainda demorar muitos anos em pesquisas para se obter consensualidade. Alguns resultados são mesmo conflituosos, especialmente devido a técnicas experimentais não muito confiáveis.

Desde há alguns anos a esta parte tem vindo a ser exigido à indústria alimentar, por parte dos consumidores, produtos frescos e cada vez menos processados. Assim, na preservação dos alimentos, assume grande importância a inactivação dos microrganismos, tendo esta vindo a ser objecto de muitos estudos por parte da comunidade científica (Valdramidis V. P., 2006).

A descontaminação bacteriológica pode ser obtida através de processos físicos ou químicos e por vezes até pelos dois processos em simultâneo ( Lee K., 2005).

Usando tratamentos químicos, a esterilização é conseguida através do recurso a agentes tal como o óxido de etileno (ETO) (Hugo W. B., 1995), que pode ser utilizado a temperaturas menores do que 60 °C (Chau T., 1996; Lee K., 2005).

Os tratamentos térmicos formam um método fácil de esterilização. Esta técnica permite a destruição dos microrganismos por um processo físico, no qual as moléculas são activadas pelo efeito da temperatura e de seguida sofrem a ruptura das suas ligações internas. No entanto, esta técnica apresenta algumas limitações no caso de bactérias que possuem uma estrutura porosa (uma vez que estas podem resistir mesmo a elevadas temperaturas) e pode envolver a aplicação de uma temperatura muito elevada por um longo período.

De entre os métodos de esterilização apresentados, o mais utilizado na indústria alimentar é o processo térmico, sendo este considerado um processo seguro. Como este tipo de tratamento é conseguido através da utilização de elevadas temperaturas, provoca a desnaturação ou inactivação de proteínas e de outros substratos fisiológicos presentes nos alimentos. A desnaturação tem como consequência a perda da qualidade, sabor e quantidade de nutrientes nos alimentos (Ohshima T., 2002).

Existem ainda numerosas técnicas de descontaminação bacteriológica que utilizam radiação, quer ionizante quer não ionizante.

Há várias outras técnicas de descontaminação baseadas na radiação electromagnética como meio de descontaminação, que têm vindo a ser utilizadas cada vez com mais frequência na indústria alimentar. De entre elas distinguem-se as radiações ultravioletas, infravermelhos, radio-frequência e microondas.

Os raios ultravioletas (UV) são ondas electromagnéticas que se situam no espectro entre os 100 e 400 nm, estando no limite das radiações electromagnéticas ionizantes. Estas radiações estão divididas em três grupos: os UV A (315 a 400 nm), UV B (280 a 315 nm) e UV C (200 a 280 nm). Estes últimos são responsáveis pela acção bactericida, sendo manifestada a nível do ADN dos microrganismos. Mais especificamente, os UV C provocam alterações fotoquímicas ao nível das proteínas e dos ácidos nucleicos, formando por exemplo dímeros e trímeros, conduzindo desta forma à morte celular (Laroussi M., 2004; Tran M. T. T., 2004). Esta técnica é muito utilizada na desinfecção de águas nos efluentes (Tran M. T. T., 2004).

Os raios infravermelhos (IV) situam-se no espectro electromagnético entre as ondas visíveis e as ondas rádio, possuindo comprimentos de onda entre 0,8 µm e 1 mm. A absorção da radiação IV induz uma agitação molecular, traduzindo-se num aumento de temperatura que é função da natureza física e química do produto. Como a profundidade de penetração dos raios IV é pequena, isto é, da ordem dos

milímetros, esta técnica é essencialmente utilizada em tratamentos de descontaminação à superfície. Tem como principal vantagem a descontaminação em contínuo e por outro lado tem, como principais inconvenientes, o facto de ser necessário um grande investimento económico, a necessidade de utilizar embalagens transparentes aos IV e uma limitação ao nível do tratamento (tratamento em superfície) (Carole R., 2003).

A principal vantagem da utilização da radiação de microondas como técnica de esterilização, em comparação com o aquecimento tradicional, reside no facto do aquecimento ser mais rápido e como consequência requerer menos tempo para atingir as temperaturas pretendidas.

As radio-frequências, compreendidas entre 3 MHz e 30 MHz, são também utilizadas para descontaminação, sendo uma técnica muitas vezes comparada à de microondas (Ponne C. T., 1996).

Na indústria, estes tratamentos, utilizam duas frequências, em particular, 13,56 e 27,12 MHz. No entanto, é pouco conhecida, mas utilizada na indústria têxtil, plásticos, papel / cartão, etc.... (Carole R., 2003).

Uma técnica muito utilizada na descontaminação designa-se por Campos Eléctricos Pulsados (PEF) (Bazhal M. I., 2006). Esta tecnologia consiste na aplicação de um campo eléctrico muito intenso, superior a 1 MV/m durante um curto espaço de tempo (da ordem dos microsegundos) sobre um produto (de preferência líquido) colocado entre dois eléctrodos (Jeyamkondam S., 1999; Carole R., 2003).

Nos anos 90 foram feitos vários estudos sobre o PEF, utilizando diferentes microrganismos, sendo demonstrada a sua eficácia em termos de descontaminação, em particular sobre formas vegetais (García D., 2005). Esta eficácia depende de numerosos parâmetros. Referem-se parâmetros físicos do sistema de exposição (intensidade do campo eléctrico, duração do pulso, número de pulsos, etc....), parâmetros do produto a tratar (pH, condutividade, etc....) e características dos microrganismos (espécie, tamanho, fase de crescimento, etc...) (Aronsson K., 2001).

O mecanismo de destruição dos microrganismos pelo PEF ainda não é completamente compreendido. Sabe-se que provoca instabilidades locais ao nível da membrana, devido a uma compressão electromecânica e por sua vez, a tensão induzida pelo campo eléctrico conduz à formação de poros. Este fenómeno é denominado por electroporação. Estas instabilidades membranares só se verificam quando o campo eléctrico aplicado (E) possui um valor superior ao campo eléctrico crítico ( $E_c$ ) (Carole R., 2003). Uma das maiores consequências da electroporação é um fenómeno chamado de electopermeabilização, que corresponde a uma aumento drástico da permeabilidade celular e em alguns casos provoca a ruptura da membrana

celular. Com esta técnica de descontaminação os alimentos são pasteurizados utilizando menos energia e ao mesmo tempo as alterações nas vitaminas e no sabor são menores do que as obtidas com o processo térmico.

Uma outra técnica em expansão na indústria alimentar baseia-se na aplicação de uma alta pressão (HP) devido às vantagens apresentadas quando comparadas com o processo térmico, pois preserva o valor nutricional dos alimentos (Valdramidis V. P., 2006; Torrecilla J. S., 2004). Esta técnica de descontaminação utiliza uma pressão entre os 500 e 1000 bar e tem como principal vantagem o facto de não afectar as ligações covalentes existentes em vitaminas, não afectando sabor e cor, ao mesmo tempo que destrói bolores, leveduras e bactérias. Ou seja, a alta pressão provoca uma menor deterioração nos nutrientes com menor peso molecular em comparação com outras tecnologias como a alta temperatura e a modificação do pH do meio.

Actualmente, a técnica de HP é principalmente usada na indústria alimentar para controlo microbiológico e na actividade enzimática dos produtos. Em ambos os casos, os resultados obtidos dependem muito da pressão aplicada bem como da temperatura durante os tratamentos. Este processo pode ainda ser mais eficiente quando combinado com um tratamento com temperatura (Carole R., 2003).

Neste trabalho estuda-se a possibilidade de utilização de radiação de microondas, com baixa potência, de modo a não provocar um grande aumento da temperatura. Pretende-se assim inactivar bactérias, a temperaturas inferiores às que eventualmente provoquem alterações responsáveis pela deterioração da qualidade dos alimentos.

Escolheu-se a frequência de 2,45 GHz, por ser a que é utilizada pelos fornos de microondas comerciais e consequentemente ser fácil a aquisição de componentes.

## Bibliografia

- Aronsson K., Rönner U., *Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of Escherichia coli and Sacharomyces cerevisiae by pulsed electric fields*, Innovative Food Sci. & Emerg. Tech. 2, 2001, 105-112.
- Babincová M., Sourivong P., Leszczynska D., Babinec P., *Effects of GSM microwaves, pulsed magnetic field, and temperature on fractal dimension of brain tumors*, Chaos, Solutions and Fractals 20, 2004, 1041-1045.
- Banik S., Bandyopadhyay S., Ganguly S., *Bioeffects of microwave- a brief review*, Biores. Technol. 87, 2003, 155-159.
- Bazhal M. I., Ngadi M. O., Raghavan G. S. V., Smith J. P., *Inactivation of Escherichia coli O157:H7 in liquid Whole egg using combined pulsed electric field and thermal treatments*, LWT 39, 2006, 419-425.
- Carole R., *Etude des interactions entre la bactérie Escherichia coli et les micro-ondes appliquées en mode discontinu dans des conditions faiblement thermiques*, Université de Limoges, 2003.
- Chau T. T., Kao K. C., Blank G., Madrid F., *Microwave plasma for low-temperature dry sterilization*, Biomaterials 17, 1996, 1273-1277.
- Crouzier D., Debouzy J. C., Bourbon F., Collin A., Perrin A., Testylier G., *Neurophysiologic effects at low level 1,8 GHz radiofrequency field exposure: a multiparametric approach on freely moving rats*, Pathologie Biologie, 2006.
- García D., Gómez N., Raso J., Pagán R., *Bacterial resistance after pulsed electric fields depending on the treatment medium pH*, Innovative Food Sci. Emerg. Tech. 6, 2005, 388-395.
- Gardiol F., *Introduction to microwaves*, Artech House, 1984.
- Hugo W. B., *A Brief History of Heat, Chemical and Radiation Preservation and disinfection*, International Biodeterioration & Biodegradation, 1995, 197-217.
- Jeyamkondam S., Jayas D. S., Holley R. A., *Pulsed electric field processing of foods: a review*, Journal Food protect 62, 1999, 1088-1096.
- Laroussi M., Leipold F., *Evaluation of the roles reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure*, Intern. J. Mass Spectrometry 233, 2004, 81-86.
- Lee K., Park B. J., Lee D. H., Lee I., Hyun S. O., Chung K., Park J., *Sterilization of Escherichia coli and MRSA using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure*, Surface & Coatings Tech. 193, 2005, 35-38.

- Ohshima T., Okuyama K., Sato M., *Effect of culture temperature on high-voltage pulse sterilization of Escherichia coli*, J. Electrostatics 55, 2002, 227-235.
- Paulraj R., Behari J., *Single strand DNA breaks in rat brain cells exposed to microwave radiation*, Mutation Research 596, 2006, 76-80.
- Ponne C. T., Gorris G. M., Balk M., Hancioglu O., *Effect of Radio Frequency Energy on Biological Membranes and Microorganisms*, Lebensm-wiss. u.-Technol. 29,1996, 41-48.
- Tran M. T. T., Farid M., *Ultraviolet treatment of orange juice*, Innovative Food Sci. Emerg. Tech. 5, 2004, 495-502.
- Torrecilla J. S., Otero L., Sanz P. D., *A neural network approach for thermal / pressure food processing*, J. Food Eng. 62, 2004, 89-95.
- Valdramidis V. P., Geeraerd A. H., Poschet F., Ly-Nguyen B., Opstal I. V., Van Loey A. M., Michiels C. W., Hendrickx M. E., *Model based process design of the combined pressure and mild treatment ensuring safety and quality of a carrot simulant system*, J. Food Eng. 78, 2006, 1010-1021.

## 2. Síntese teórica



## 2. Síntese teórica

### 2.1. Ondas electromagnéticas

---

#### 2.1.1. Equações de Maxwell

As relações entre o campo eléctrico ( $\vec{E}$ ) e o campo magnético ( $\vec{H}$ ), quer nos materiais quer no vazio são descritas pelas equações de Maxwell. Estas equações são conhecidas pelo nome do físico que as deduziu pela primeira vez, James Clerk Maxwell (1831- 1879).

As equações de Maxwell no vazio são:

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0} \quad (2.1)$$

$$\nabla \cdot \vec{H} = 0 \quad (2.2)$$

$$\nabla \times \vec{E} = -\mu_0 \frac{\partial \vec{H}}{\partial t} \quad (2.3)$$

$$\nabla \times \vec{H} = \vec{J} + \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad (2.4)$$

As equações acima descritas são as quatro equações fundamentais do electromagnetismo, onde,  $\rho$  é a densidade volúmica de carga,  $\epsilon_0$  a permitividade eléctrica do vazio,  $\mu_0$  a permeabilidade magnética do vazio e  $c$  a velocidade da luz no vazio (Lorrain P., 2000).

Num meio homogéneo qualquer, a razão entre os campos eléctrico e magnético chama-se impedância característica do meio e representa-se por  $Z$ ,

$$\text{sendo } Z = \frac{|\vec{E}|}{|\vec{H}|} = \left( \frac{\mu}{\varepsilon} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2.5)$$

onde  $\mu$  é a permeabilidade magnética e  $\varepsilon$  é a permissividade eléctrica do meio.

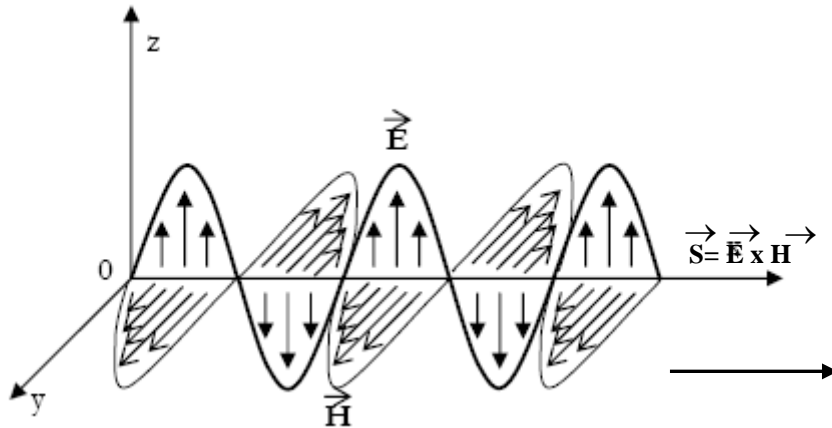


Figura 2.1. Esboço de uma onda electromagnética plana monocromática, sendo  $\vec{S} = \vec{E} \times \vec{H}$ , na direcção de propagação (Carole R., 2003).

A propagação das ondas é perpendicular aos campos  $\vec{E}$  e  $\vec{H}$ , e é descrita pelo vector Poynting  $\vec{S} = \vec{E} \times \vec{H}$ . Esta grandeza de fundamental importância representa a densidade de potência e a sua amplitude é dada por

$$|S| = \frac{|E|^2}{Z} \quad (2.6)$$

ou

$$|S| = \frac{|H|^2}{Z} \quad (2.7)$$

## 2.1.2. Espectro electromagnético

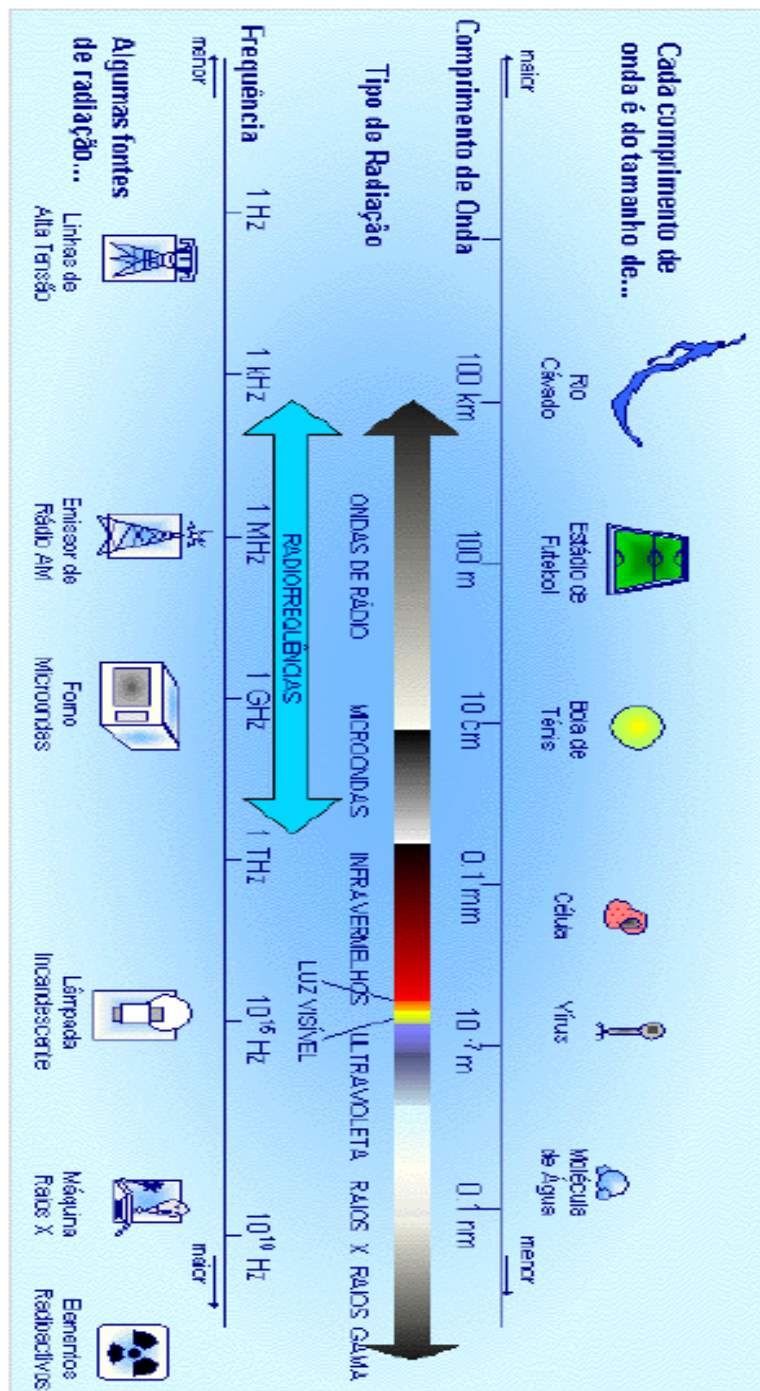


Figura 2.2 – Espectro electromagnético e exemplos de ordens de grandeza associados (<http://faro.lx.it.pt/item/imagensweb2/Figura5.gif>).

Enquanto parte do espectro electromagnético foi extensivamente estudado sob o ponto de vista dos possíveis efeitos na saúde das pessoas expostas, outra parte

deste espectro, com frequências muito menores, foram menos pesquisadas, com resultados ainda que em parte controversos.

Toda a onda electromagnética está associada a um fóton, cuja energia pode ser determinada pela relação

$$E = hf = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.8)$$

onde h é a constante de Planck ( $h = 6,62 \times 10^{-34}$  J).

As ondas electromagnéticas de acordo com a sua frequência e energia podem ser classificadas em radiações não ionizantes ou ionizantes. As radiações não ionizantes correspondem às de menor energia, ou seja, menor frequência e maior comprimento de onda. Inclui as muito baixas frequências como as da rede eléctrica (50 Hz, 6000 km), radio-frequências, microondas, infravermelho, visível e ultra-violeta próximo.

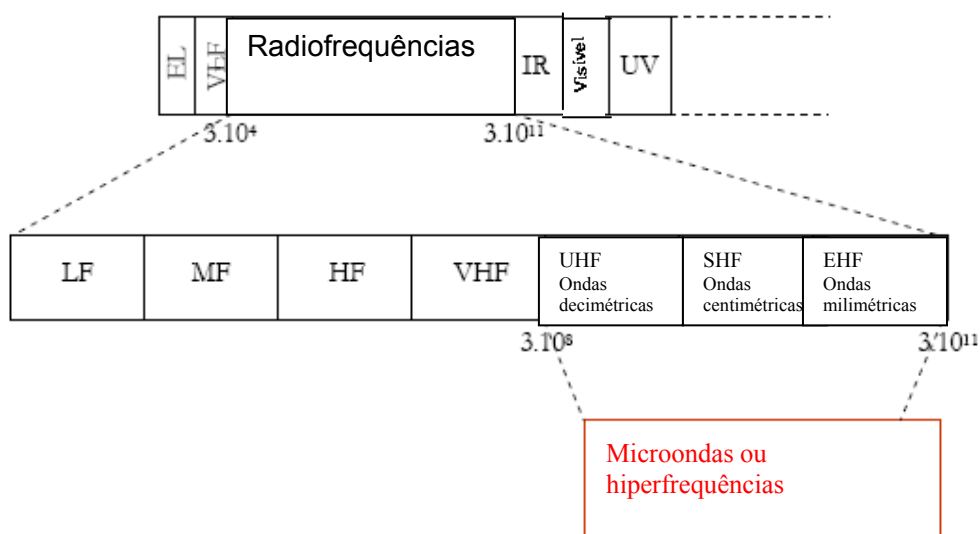


Figura 2.3 – Espectro electromagnético dividido em bandas (Carole R., 2003).

### **2.1.3. Características da radiação de microondas**

Como já foi referido, a radiação de microondas cobre o espectro de frequências na gama dos 300 MHz aos 300 GHz, que corresponde a comprimentos de onda ( $\lambda$ ), no vazio, entre 1m e 1 mm.

Esta radiação pode ser transmitida através de tubos metálicos e podem focar-se feixes pelo uso de antenas de alta ganho. As microondas ainda mudam de direcção quando viajam de um material dieléctrico para outro, ou seja, são refractadas, obedecendo às condições fronteira (Deeareau R. V., 1986).

São reflectidas por materiais de elevada condutividade, absorvidas por alguns materiais dieléctricos, como por exemplo, água, carbono e comida com alto teor em água. Por outro lado, vidro, cerâmicos e a maior parte de materiais termoplásticos permitem a passagem da radiação de microondas com uma pequena ou nenhuma absorção.

Como já foi referido, a radiação de microondas possui a característica de não ser ionizante, uma vez que esta apenas interage com os materiais dieléctricos para gerar aquecimento devido à agitação das moléculas num campo electromagnético alternado. A sua energia não é suficiente para arrancar electrões do átomo, não podendo portanto provocar a ionização.

### **2.1.4. Propagação das ondas electromagnéticas**

Uma onda ao propagar-se pode encontrar obstáculos de natureza diferente, como por exemplo ar, água, meio biológico, etc.

Quando a onda electromagnética se propaga num material, pode produzir vários tipos de interacções em função do seu comprimento de onda, das dimensões do objecto encontrado e das características físicas dos meios atravessado, ou seja, o comportamento da onda electromagnética é afectado pelo meio que atravessa. Assim, as ondas electromagnéticas ao atravessarem um meio podem sofrer difusão, absorção, reflexão, refacção ou difracção. A difusão ocorre sempre que no trajecto da onda surjam obstáculos de dimensões da mesma ordem do comprimento de onda ou mais pequenos. A absorção ocorre sempre que parte da energia transmitida pela onda é absorvida. A reflexão ou refacção, tem lugar quando os dois meios são separados por uma superfície em que as dimensões são muito grandes e as irregularidades muito pequenas quando comparadas com o comprimento de onda. Finalmente, a difracção ocorre quando as irregularidades da superfície são da mesma ordem de grandeza do

comprimento de onda ou quando as dimensões da superfície de separação são da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda (Carole R., 2003).

Tomemos como exemplo o caso de uma interacção com uma onda plana. Neste caso, parte da energia transportada pela onda electromagnética é absorvida pelos diferentes meios que ela atravessa, uma outra parte é reflectida e outra é transmitida ao objecto exposto (figura 2.4).

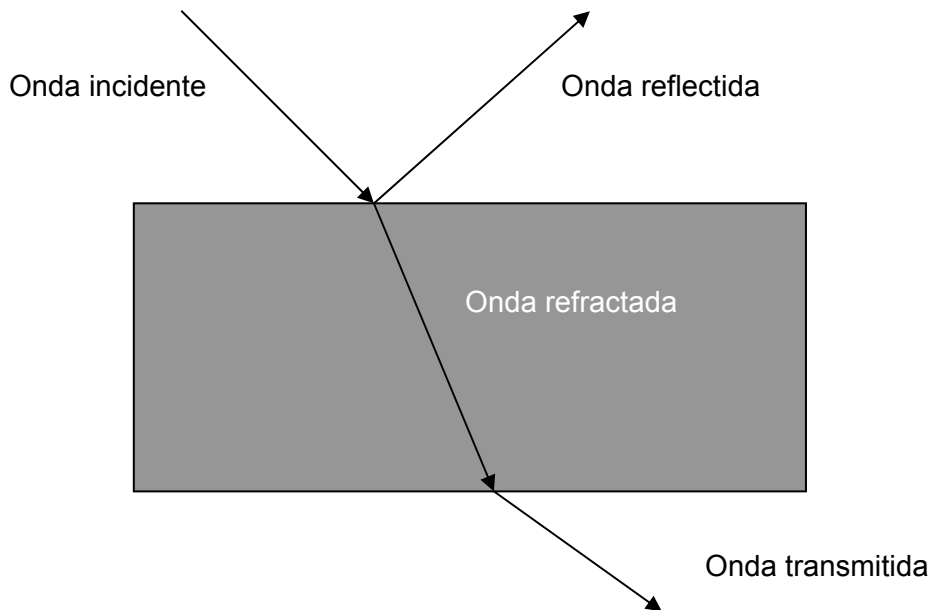


Figura 2.4 – Comportamento de uma onda electromagnética num meio material (Carole R., 2003).

As interacções entre as ondas e a matéria dependem das características electromagnéticas do meio à frequência da onda utilizada, como a permitividade e a condutividade.

Os meios são caracterizados por uma permitividade relativa,  $\epsilon_r$ , que traduz a nível macroscópico os fenómenos que ocorrem a nível microscópico. A permitividade de um material é um número complexo,

$$\epsilon_r = \epsilon' - i\epsilon'' \quad (2.9)$$

A parte real,  $\varepsilon'$ , traduz a capacidade de um material ser polarizado por um campo eléctrico externo, a parte imaginária,  $\varepsilon''$ , traduz as perdas dieléctricas.

A parte imaginária pode ser expressa através da expressão:

$$\varepsilon'' = \frac{\sigma}{\varepsilon_0 \omega} \quad (2.10)$$

onde  $\sigma$  é a condutividade,  $\varepsilon$  é a permissividade absoluta e  $\omega$  é a frequência angular (Carole R., 2003).

## 2.2. Guia de onda

---

A energia electromagnética viaja ao longo de uma linha de transmissão como num guia de onda.

Vamos, de seguida, analisar a propagação do campo electromagnético em guias de onda, ou seja, regiões confinadas do espaço.

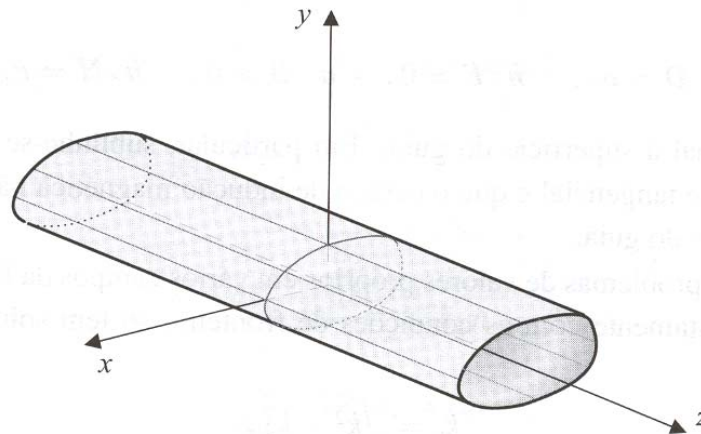


Figura 2.5 – Guia de onda rectilíneo com secção recta de forma arbitrária (Brito L., 1999).

Assim, conside-se uma guia de onda rectilíneo, estendendo-se ao longo da direcção Z e podendo ter uma secção recta (plano XY) de forma arbitrária, mas independente de Z. Considere-se também que o material que constitui o guia

(dieléctrico e/ ou magnético) é linear, homogéneo e isotrópico. A velocidade de propagação da onda nesse meio é  $v = \frac{1}{\sqrt{\epsilon\mu}}$ .

As equações de propagação dos campos eléctrico e magnético podem ser escritos de uma forma genérica por:

$$\nabla^2 \Phi - \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 \Phi}{\partial t^2} = 0 \quad (2.11)$$

onde  $\Phi$  designa qualquer das componentes cartesianas do campo eléctrico ou do campo magnético. Ao escrever (2.11), estamos a admitir que não existem cargas nem correntes livres. Como o guia é infinito segundo  $Z$ , não existem reflexões nas suas extremidades. Uma forma possível para a onda que se propaga neste meio no sentido positivo do eixo  $Z$  é

$$\Phi(x, y, z, t) = \phi(x, y) e^{i(\omega t - k_g z)} \quad (2.12)$$

onde  $\phi(x, y)$  é a amplitude, que pode depender de  $x$  e  $y$  mas não de  $z$  e  $k_g = \frac{2\pi}{\lambda_g}$ ,

onde  $\lambda_g$  é o comprimento da onda no guia.

De (2.11) e (2.12) pode escrever-se

$$\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} + (k^2 - k_g^2) \Phi = 0 \quad (2.13)$$

Trata-se de uma equação de valores próprios, cuja solução fica determinada pelas condições fronteira de  $\vec{E}$  e  $\vec{B}$ .

No caso das paredes do guia serem condutores perfeitos ( $\sigma \rightarrow \infty$ ), o campo electromagnético não penetra no seu interior, pelo que as condições fronteira para os campos eléctrico e magnético são

$$\hat{n} \cdot \vec{D} = \sigma_l, \quad \hat{n} \times \vec{E} = \vec{0}, \quad \hat{n} \cdot \vec{B} = 0, \quad \hat{n} \times \vec{H} = \vec{k}_l \quad (2.14)$$

onde  $\hat{n}$  é o versor normal à superfície do guia.



Em particular, sublinhe-se que o campo eléctrico não pode ter componente tangencial e que o campo magnético não pode ter componente normal junto das paredes do guia.

Assim, a equação (2.13) juntamente com as condições fronteira só tem soluções para determinados valores próprios,

$$k_c = \sqrt{k^2 - k_g^2} \quad (2.15)$$

ou seja, só certos tipos (ou modos) de ondas se podem propagar no guia. Só terão interesse soluções a que correspondam valores reais de  $k_g$ . De outro modo, a função (2.12), embora persistente no tempo, deixa de o ser no espaço, decaindo exponencialmente para valores crescentes de  $z$ . Assim, só haverá onda a propagar-se quando  $k > k_c$ , ou seja, quando  $\lambda < \lambda_c = 2\pi / k_c$ , sendo  $\lambda_c$  o comprimento de onda crítico acima do qual deixa de haver soluções ondulatórias do tipo (2.12).

Como estamos a admitir a ausência de cargas e correntes livres, o conjunto das equações de Maxwell escreve-se

$$\nabla \cdot \vec{E} = 0 \quad (2.16)$$

$$\nabla \times \vec{E} = -\mu \frac{\partial \vec{H}}{\partial t} \quad (2.17)$$

$$\nabla \cdot \vec{H} = 0 \quad (2.18)$$

$$\nabla \times \vec{H} = \varepsilon \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad (2.19)$$

Cada uma das componentes dos campos  $\vec{E}$  e  $\vec{B}$  é escrita do seguinte modo:

$$E_x = e_x(x, y)e^{i(\omega t - k_g z)} \quad H_x = h_x(x, y)e^{i(\omega t - k_g z)} \quad (2.20)$$

$$E_y = e_y(x, y)e^{i(\omega t - k_g z)} \quad H_y = h_y(x, y)e^{i(\omega t - k_g z)} \quad (2.21)$$

$$E_z = e_z(x, y)e^{i(\omega t - k_g z)} \quad H_z = h_z(x, y)e^{i(\omega t - k_g z)} \quad (2.22)$$

Substituindo os campos eléctrico e magnético dados por estas expressões nas equações de Maxwell de (2.16) a (2.19), obtém-se:

$$\frac{\partial e_x}{\partial x} + \frac{\partial e_y}{\partial y} - ik_g e_z = 0 \quad (2.23)$$

$$\frac{\partial e_z}{\partial y} + ik_g e_y = -i\omega\mu h_x \quad (2.24)$$

$$ik_g e_x + \frac{\partial e_z}{\partial x} = i\omega\mu h_y \quad (2.25)$$

$$\frac{\partial e_y}{\partial x} - \frac{\partial e_x}{\partial y} = -i\omega\mu h_z \quad (2.26)$$

$$\frac{\partial h_x}{\partial x} + \frac{\partial h_y}{\partial y} - ik_g h_z = 0 \quad (2.27)$$

$$\frac{\partial h_z}{\partial y} + ik_g h_y = i\omega\varepsilon e_x \quad (2.28)$$

$$ik_g h_x + \frac{\partial h_z}{\partial x} = -i\omega\varepsilon e_y \quad (2.29)$$

$$\frac{\partial h_y}{\partial x} - \frac{\partial h_x}{\partial y} = i\omega\varepsilon e_z \quad (2.30)$$

Cada uma das componentes transversas,  $e_x$ ,  $e_y$ ,  $h_x$  e  $h_y$ , pode ser escrita em função das componentes longitudinais  $e_z$  e  $h_z$ . Eliminando  $h_y$  de entre (2.25) e (2.28) e fazendo uso da definição (2.15), obtém-se

$$e_x = -\frac{i}{k_c^2} \left( k_g \frac{\partial e_z}{\partial x} + \mu\omega \frac{\partial h_z}{\partial y} \right) \quad (2.31)$$

De (2.24) e (2.29),

$$e_y = -\frac{i}{k_c^2} \left( k_g \frac{\partial e_z}{\partial y} - \mu\omega \frac{\partial h_z}{\partial x} \right) \quad (2.32)$$

De novo de (2.24) e (2.29)

$$h_x = -\frac{i}{k_c^2} \left( k_g \frac{\partial h_z}{\partial x} - \varepsilon\omega \frac{\partial e_z}{\partial y} \right) \quad (2.33)$$

Usando novamente o par de equações (2.25) e (2.28), conclui-se que

$$h_y = -\frac{i}{k_c^2} \left( \varepsilon\omega \frac{\partial e_z}{\partial x} + k_g \frac{\partial h_z}{\partial y} \right) \quad (2.34)$$

Note-se que cada uma das equações (2.31) a (2.34) é a soma de dois termos: um que tem directamente a ver com a componente longitudinal do campo eléctrico,  $e_z$ ; e outro que está directamente relacionado com a componente longitudinal do campo magnético,  $h_z$ .

Se  $e_z = 0$ , o campo eléctrico é transversal e a onda diz-se eléctrica transversal (TE). Se  $h_z = 0$ , a onda denomina-se magnética transversal (TM). Quando  $e_z = 0$  e  $h_z = 0$ , a onda é electromagnética transversal (TEM).

Quer se trate de uma onda TM, quer se trate de uma onda TE, da equação (2.31) à (2.34) pode, em qualquer caso, concluir-se que:

$$\frac{e_x}{h_y} = -\frac{e_y}{h_x} \quad (2.35)$$

## 2.3. Cavidade ressonante

---

Considera-se a cavidade ressonante como um segmento de guia de onda curto-circuitado nas duas extremidades. Nesta secção estuda-se o caso particular de uma cavidade ressonante rectangular (figura 2.6).

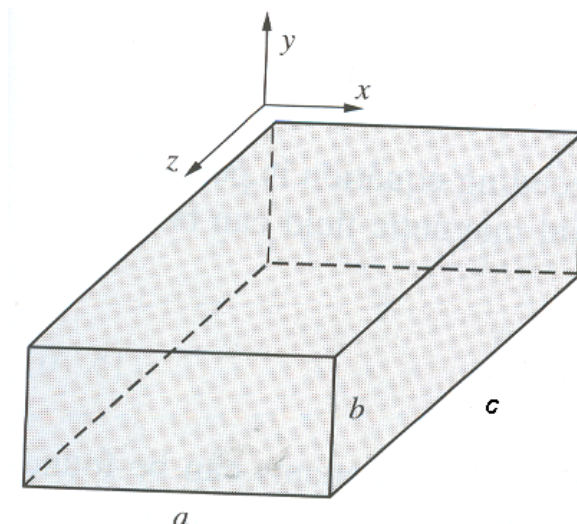


Figura 2.6 – Cavidade rectangular de dimensões  $a \times b \times c$  (Ian U. S., 2000).

As paredes da cavidade são metálicas, e o material interior à cavidade é geralmente um dieléctrico com permeabilidade  $\mu$  e permitividade  $\epsilon$ .

Podem encontrar-se as soluções para os campos usando as soluções conhecidas para os modos da onda para produzir um campo estacionário aplicando as condições de fronteira em  $z = 0$  e  $z = c$ .

As soluções podem ser encontradas a partir das expressões para qualquer um dos modos do guia rectangular. Além disso, uma vez que  $c$  é um múltiplo do comprimento de onda, pode encontrar-se um número infinito de soluções para cada modo do guia de onda.

O campo electromagnético no interior da cavidade obedece à equação de onda,

$$\nabla^2 \Phi - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \Phi}{\partial t^2} = 0 \quad (2.36)$$

onde  $\Phi$  designa cada uma das componentes dos campos eléctricos e magnético.

A onda electromagnética no interior da cavidade já não pode ter a forma de uma onda progressiva, devido ao tamanho finito da cavidade e à reflexão das ondas nas suas paredes condutoras.

As soluções da equação (2.36) podem ser procuradas de entre as funções da forma

$$\Phi(\vec{r}, t) = \varphi(\vec{r})e^{-i\omega t} \quad (2.37)$$

obtendo-se a seguinte equação para o campo  $\varphi(\vec{r})$  :

$$\nabla^2 \varphi + k_0^2 \varphi = 0 \quad (2.38)$$

$$\text{com } k_0^2 = \left(\frac{\omega}{c}\right)^2.$$

Em coordenadas cartesianas esta equação admite soluções com variáveis separadas, isto é, soluções da forma:

$$\varphi(\vec{r}) = X(x)Y(y)Z(z) \quad (2.39)$$

em que

$$X(x) = A_1 \text{sen}(k_1 x) + B_1 \cos(k_1 x) \quad (2.40)$$

$$Y(y) = A_2 \text{sen}(k_2 y) + B_2 \cos(k_2 y) \quad (2.41)$$

$$Z(z) = A_3 \text{sen}(k_3 z) + B_3 \cos(k_3 z) \quad (2.42)$$

com as quantidades  $k_i$  sujeitas à restrição:

$$k_1^2 + k_2^2 + k_3^2 = k_0^2 = \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 \quad (2.43)$$

Considere-se uma onda TE, na qual a componente do campo eléctrico segundo z é nula. Pode então escrever-se,

$$E_x = [A_{1x} \text{sen}(k_1 x) + B_{1x} \cos(k_1 x)][A_{2x} \text{sen}(k_2 y) + B_{2x} \cos(k_2 y)][A_{3x} \text{sen}(k_3 z) + B_{3x} \cos(k_3 z)]e^{-i\omega t} \quad (2.44)$$

$$E_y = [A_{1y} \sin(k_1 x) + B_{1y} \cos(k_1 x)] [A_{2y} \sin(k_2 y) + B_{2y} \cos(k_2 y)] [A_{3y} \sin(k_3 z) + B_{3y} \cos(k_3 z)] e^{-i\omega t} \quad (2.45)$$

Considere-se, em primeiro lugar, a componente  $x$  do campo. Como o campo eléctrico não pode ter componente tangencial sobre as faces da cavidade, a componente  $E_x$  tem de ser nula nas faces  $x = 0$  e  $x = a$ , e  $y = 0$  e  $y = b$ .

Estas condições fronteiras implicam que  $B_{1x} = B_{3x} = 0$  e que  $k_1 = \frac{m\pi}{a}$  e  $k_3 = \frac{p\pi}{c}$ , com  $m$  e  $p$  inteiros.

Quanto à componente  $E_y$ , a condição do campo não ter componente tangencial sobre as faces implica que  $B_{1y} = B_{3y} = 0$  e impõe a seguinte condição para  $k_2$ ,

$$k_2 = \frac{n\pi}{b}, \text{ com } n \text{ inteiro.}$$

Substituindo estes resultados na equação (2.43) obtemos a expressão das frequências de ressonância para qualquer modo  $TE_{mnp}$  (Thuery J., 1992):

$$\omega_{mnp} = \frac{1}{\sqrt{\mu\epsilon}} \sqrt{\frac{m^2 \pi^2}{a^2} + \frac{n^2 \pi^2}{b^2} + \frac{p^2 \pi^2}{c^2}} \quad (2.46)$$

ou seja,

$$f_r = \frac{1}{2\sqrt{\mu\epsilon}} \sqrt{\left(\frac{m}{a}\right)^2 + \left(\frac{n}{b}\right)^2 + \left(\frac{p}{c}\right)^2} \quad (2.47)$$

Desta expressão pode ver-se que a escolha das dimensões da cavidade condiciona a sua frequência de ressonância para um determinado modo.

## 2.4. Interacção da radiação electromagnética com a matéria

---

Para que a radiação electromagnética possa produzir algum efeito, num tecido ou em qualquer outra substância é necessário que haja transferência desta radiação para o meio, e que esta energia seja absorvida. Os efeitos desta absorção no tecido vivo são de natureza térmica e não térmica, dependendo se os efeitos são devidos à deposição de calor (efeito térmico) ou devido à interacção directa do campo com as substâncias, sem transferência significativa do calor (efeito não térmico).

Os factores mais importantes, para absorção das ondas, são a constante dieléctrica, a condutividade, a geometria e o conteúdo de moléculas polares no meio.

Existem dois mecanismos através dos quais a radiação de microondas produz calor nos materiais dieléctricos, que são a polarização iónica e a rotação do dipolo.

A polarização iónica ocorre quando iões em solução se movem devido a um campo eléctrico. Os iões possuem carga eléctrica e são acelerados quando sujeitos a um campo eléctrico. A energia cinética é dada pela carga eléctrica dos iões, que colidem com outros iões, convertendo a energia cinética em calor. Quanto mais concentrada estiver a solução, maior é a frequência das colisões e mais energia cinética é libertada. Quando o campo eléctrico é alternado à frequência da radiação de microondas (2,45 GHz) ocorrem rotações das moléculas e muito mais calor é gerado por atrito. Isto é reconhecido como um aumento na temperatura do material dieléctrico.

A rotação do dipolo é ilustrada na figura 2.7, e depende da existência de moléculas polares (<http://www.cienciaviva.pt/docs/AventurasAguaMicroOndas.pdf>).

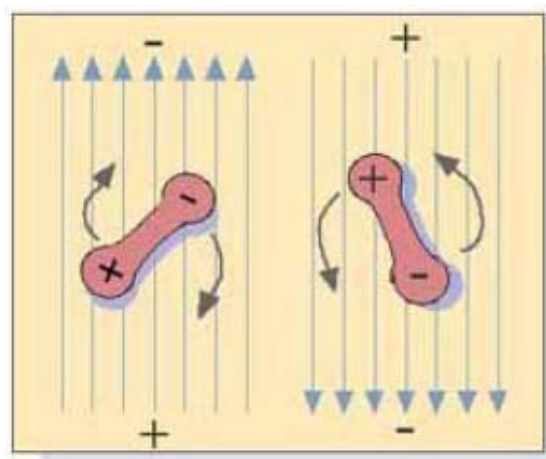


Figura 2.7 – Rotação de dipolo devido a mudança do campo.

Em condições normais, as moléculas polares estão orientadas aleatoriamente. Na presença de um campo eléctrico, as moléculas polares alinham-se com o campo eléctrico. Assim, quando um campo alternado é aplicado, a polaridade do campo varia à razão da frequências das microondas e as moléculas tentam alinhar-se com o campo em mudança, sendo o calor produzido como resultado da rotação das moléculas. Quando o campo é removido, as moléculas voltam para a sua orientação aleatória. O tempo necessário para as moléculas se orientarem depende do tamanho das moléculas.

O aquecimento pela radiação de microondas também é dependente do estado físico do material. No gelo, o movimento das moléculas de água num campo de microondas é restrito e portanto, o gelo é um pobre absorvente de ondas. Como a temperatura do material aumenta, as moléculas tendem a alinhar-se mais rapidamente e voltar ao seu estado aleatório.

A quantidade de energia da radiação de microondas convertida em calor por unidade de volume ( $Q$ ) é dada pela seguinte expressão:

$$Q = 2\pi f \varepsilon_0 \varepsilon'' E^2 \quad (2.48)$$

onde  $E$  é a intensidade do campo eléctrico,  $f$  é a frequência,  $\varepsilon_0$  é permitividade eléctrica no vazio,  $\varepsilon''$  é o factor de perda dieléctrica que representa a capacidade do material absorver a onda (Valsechi O. A., 2004).

A intensidade do campo eléctrico e a frequência são propriedades da fonte de energia, enquanto que a permitividade complexa é propriedade do material que está a ser aquecido. Assim, aumentando qualquer um dos factores descritos anteriormente aumenta a quantidade de energia convertida. Isto é, seleccionando a maior intensidade do campo eléctrico vai maximizar a conversão de energia. Aparentemente um aumento da frequência favorece também o aquecimento. No entanto, como  $\varepsilon''$  é função da frequência, este factor é determinante. Na figura 2.8 apresenta-se a variação de  $\varepsilon''$  versus frequência para o caso da água. Como se pode verificar, para valores de frequência da ordem de 20 GHz,  $\varepsilon''$  apresenta um pico, e consequentemente o aquecimento é elevado para aquela frequência.



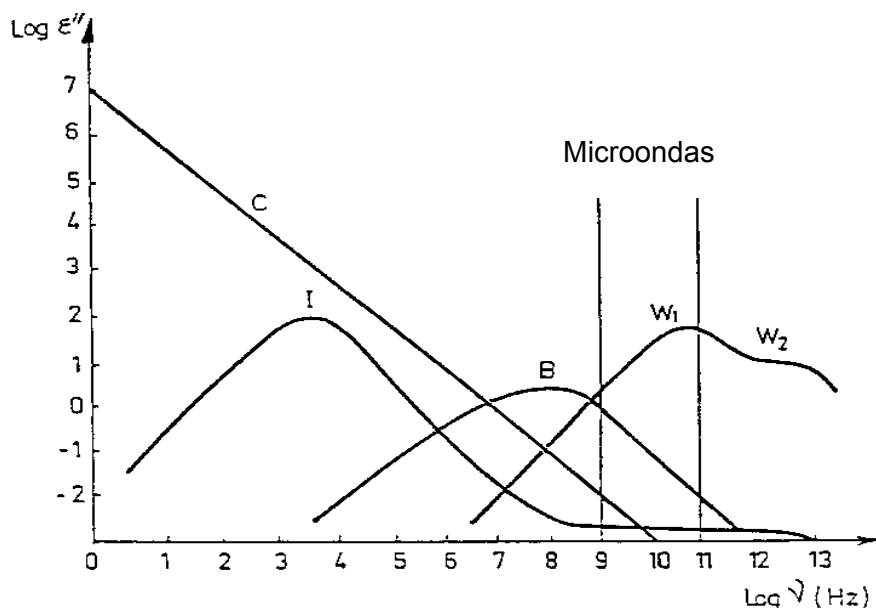


Figura 2.8 –  $\epsilon''$  versus frequência para diferentes formas de água. Onde I é o gelo, B é água ligada e w é água livre.

## 2.5. Interação da radiação de microondas com os microrganismos

As microondas têm vindo a ser utilizadas como meio de esterilização e descontaminação. Assim, têm vindo a ser realizados muitos trabalhos para testar o efeito bactericida da radiação de microondas a 2,45 GHz. Os resultados destas pesquisas mostram que a acção destrutiva desta radiação é essencialmente devida ao efeito térmico associado (Goldblith S. A., 1967). No entanto, como já foi referido anteriormente existem alguns autores que defendem a existência de um efeito não térmico (Vela G. R., 1978; Banik S., 2003).

Embora a existência do fenómeno não térmico associado à radiação de microondas seja controverso, têm sido criadas várias teorias para compreender como a energia da radiação de microondas pode destruir os microrganismos. Uma das explicações para esse fenómeno consiste na absorção selectiva da energia da radiação de microondas pelos microrganismos, tendo como resultado a sua inactivação.

Existem várias teorias que explicam o fenómeno não térmico da radiação de microondas (Kozempel M., 2000). Zimmermann et al., descrevem a teoria da ruptura dieléctrica. Referem a existência de um campo eléctrico externo que induz um potencial eléctrico transmembranar que é maior do que o potencial normal da célula. Num dado potencial a membrana da célula sofre ruptura, resultando na formação de poros, aumentando desta forma a permeabilidade da célula e ao mesmo tempo provocando a perda da integridade da mesma (Zimmermann U., 1974).

Kinosita e Tsong apresentaram um mecanismo para o desenvolvimento dos poros causados pelos campos eléctricos pulsados. Estes autores referem no seu trabalho a evidência da migração de solutos intracelulares através da membrana da célula e a sua subsequente destruição (Kozempel M., 2000).

Outra teoria avançada para explicar os efeitos não térmicos é feita por Pothakamury et al. Estes autores concluíram a existência de um efeito inibitório do campo magnético estático e oscilatório no crescimento dos microrganismos, exibindo este o efeito de inactivar os microrganismos presentes em alimentos (Kozempel M., 2000).

De todos os constituintes da célula, é na membrana celular onde ocorrem os fenómenos mais interessantes na presença de um campo electromagnético.

Devido à diferença de permitividade eléctrica entre o citoplasma da célula e o meio exterior em que a célula está inserida, aparece uma acumulação de carga na interface.

A membrana celular é constituída por uma bicamada lipidica, que se comporta electricamente como um dieléctrico, o meio externo está carregado positivamente, a membrana é um isolante, o citoplasma está carregado negativamente, ou seja, a célula comporta-se como um condensador. Este é um bom modelo para baixas frequências, mas para frequências mais elevadas, como é o caso da radiação de microondas, o efeito “condensador” diminui.

## 2.6. Profundidade de penetração

---

A profundidade de penetração é definida como a distância da superfície de um material dieléctrico, onde a energia incidente cai para  $1/e$ , isto é, cerca de 37%. A equação de atenuação de um campo eléctrico é:

$$P=P_0e^{-2\alpha d} \quad (2.49)$$

onde  $P_0$  é a energia incidente,  $P$  é a energia à profundidade de penetração,  $\alpha$  é a constante de atenuação,  $d$  é a profundidade de penetração.

$$\text{Se } \frac{P}{P_0} = e^{-1} \quad (2.50)$$

Daqui pode obter-se

$$d = \frac{1}{2,885\alpha} \quad (2.51)$$

O factor de atenuação pode ser calculado substituindo valores conhecidos de  $\varepsilon'$  e  $\tan\delta$ , na equação (Deeareau R. V., 1986) :

$$\alpha = \frac{2\pi}{\lambda} \left[ \frac{\varepsilon'}{2} \left( \sqrt{1 + \tan^2 \delta} - 1 \right) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.52)$$

Sabendo que

$$\tan \delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \quad (2.53)$$

A expressão (2.51) reduz-se a

$$d = \frac{c}{2\sqrt{2}\pi f \left\{ \varepsilon' \left( \sqrt{1 + \left( \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \right)^2} - 1 \right) \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad (2.54)$$

Como se pode observar, a profundidade de penetração da onda electromagnética depende da sua frequência. Com o seu aumento, ou seja, com a diminuição do comprimento de onda, diminui essa profundidade. Também é importante a condutividade do material, pois com o seu aumento, diminui essa profundidade a que a onda penetra no material.

## Bibliografia

- Banik S., Bandyopadhyay S., Ganguly S., *Bioeffects of microwaves – a brief review*, Biosource Technology 87, 2003, 155-159.
- Brito L., Fiolhais M., Providência C., *Campo electromagnético*, McGraw-Hill Portugal, 1999.
- Carole R., *Etude des interactions entre la bactérie Escherichia coli et les micro-ondes appliquées en mode discontinu dans des conditions faiblement thermiques*, Université de Limoges, 2003.
- Deeareau R. V., Peterson R. A., *Microwave Processing and Engeneering*, VCH, London, 1986.
- Goldblith S. A., Wang D. I. C., *Effect of Microwaves on Escherichia coli and Bacillus subtilis*, Applied Microbiology 15, 1967, 1371-1375.
- Inan U S, Inan A S, *Electromagnetic Waves*, Prentice Hall, New Jersey (2000).
- Kozempel M., Scullen O. J., Cook R., Whiting R., *Preliminary Investigation using a Batch Flow Process to Determine Bacteria Destruction by Microwave Energy at Low Temperature*, J. Food Processing 24,2000, 287-301.
- Thuery J., *Microwaves: Industrial, Scientific and medical Aplications*, Artech House Boston, London.
- Valsechi O. A., Horii J., De Angelis D. F., *The effect of microwaves on microorganisms*, Arq. Inst. Bio. 71, 2004, 399-404.
- Vela G. R., Wu J. F., *Mechanism of lethal Action of 2,450 MHz Radiation on Microorganisms*, Applied and Environmental Microbiology 37, 1979, 550-553.
- Zimmermann U., Pilwat, G., Riemann F., *Dielectric breakdown of cell membranes*, Biophysical Journal 14, 1974, 881-900.
- <http://www.cienciaviva.pt/docs/AventurasAguaMicroOndas.pdf>.
- <http://faro.lx.it.pt/item/imagensweb2/Figura5.gif>.

## 3. Parte experimental

## **3. Parte experimental**

### **3.1. Introdução**

---

Para estudar o efeito da radiação em bactérias foram utilizadas duas configurações diferentes. Uma inclui um forno comercial no qual a cultura de bactérias é colocada, mantendo sempre a mesma posição, garantindo assim que o campo eléctrico é sempre o mesmo ao longo da realização experimental. O segundo método utiliza uma cavidade ressonante, onde é criada uma onda estacionária. A amostra é colocada num ponto onde o campo eléctrico é máximo e é igualmente mantida sempre na mesma posição. A potência de radiação é controlada por um atenuador com diferentes cargas.

### **3.2. Forno de microondas**

---

O forno de microondas utilizado no decorrer do procedimento experimental foi um Teka TMW 18P com a potência aproximada de 1 kW fornecida pelo magnetron e uma frequência de ressonância de 2,45 GHz, cujas dimensões se encontram descritas na figura 3.1.

A onda é introduzida no interior do forno através de um guia de onda (A). A amostra é colocada no ponto B, após ter sido retirado o prato rotativo.

Tendo presente as dimensões do forno e as suas características, bem como a forma como as bactérias foram expostas à radiação de microondas, foi feita a simulação do campo eléctrico no seu interior (figura 3.2 e figura 3.3), utilizando o programa Semcad.



Figura 3.1 – Interior do forno de microondas utilizado, onde  $a=30,5$  cm,  $b=21,2$  cm,  $c=27$  cm,  $d=6,5$  cm e  $e=9,4$  cm.

Nas figuras 3.2 e 3.3 apresenta-se a simulação do campo eléctrico para planos horizontais, numa cota correspondente à superfície das bactérias ( $y=0,8$  cm).

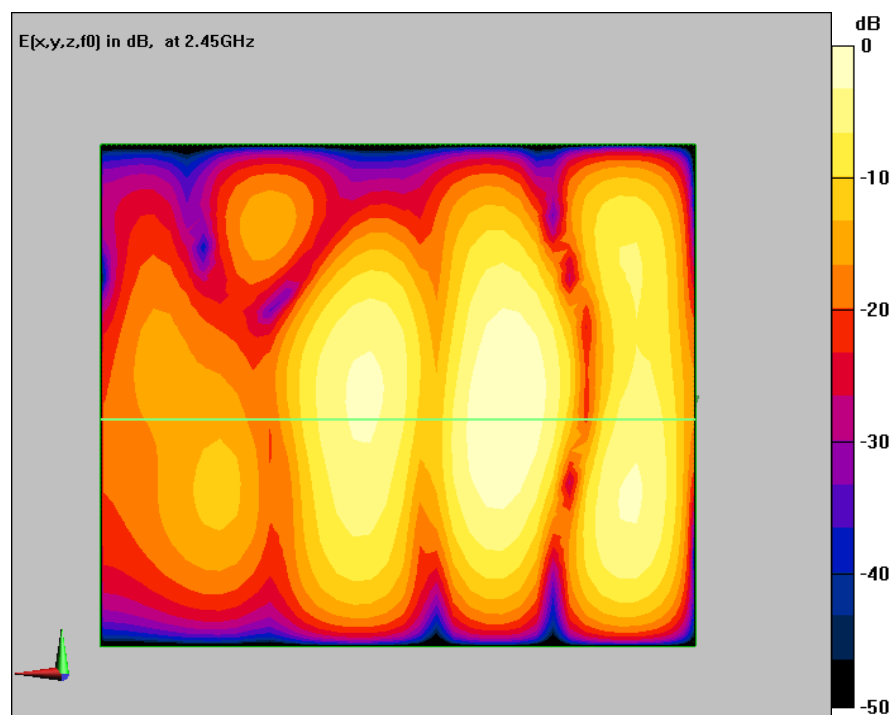


Figura 3.2 - Campo eléctrico no interior do forno de microondas vazio.

Através da análise da figura 3.2 podemos observar que o campo eléctrico no interior da cavidade do forno de microondas apresenta três máximos de intensidade, sendo um deles localizado próximo do centro.

Por forma a garantir a repetição dos resultados, as bactérias foram colocadas sempre a aproximadamente no centro da cavidade.

Na figura 3.3, podemos observar o campo eléctrico no interior do forno de microondas na presença das bactérias.

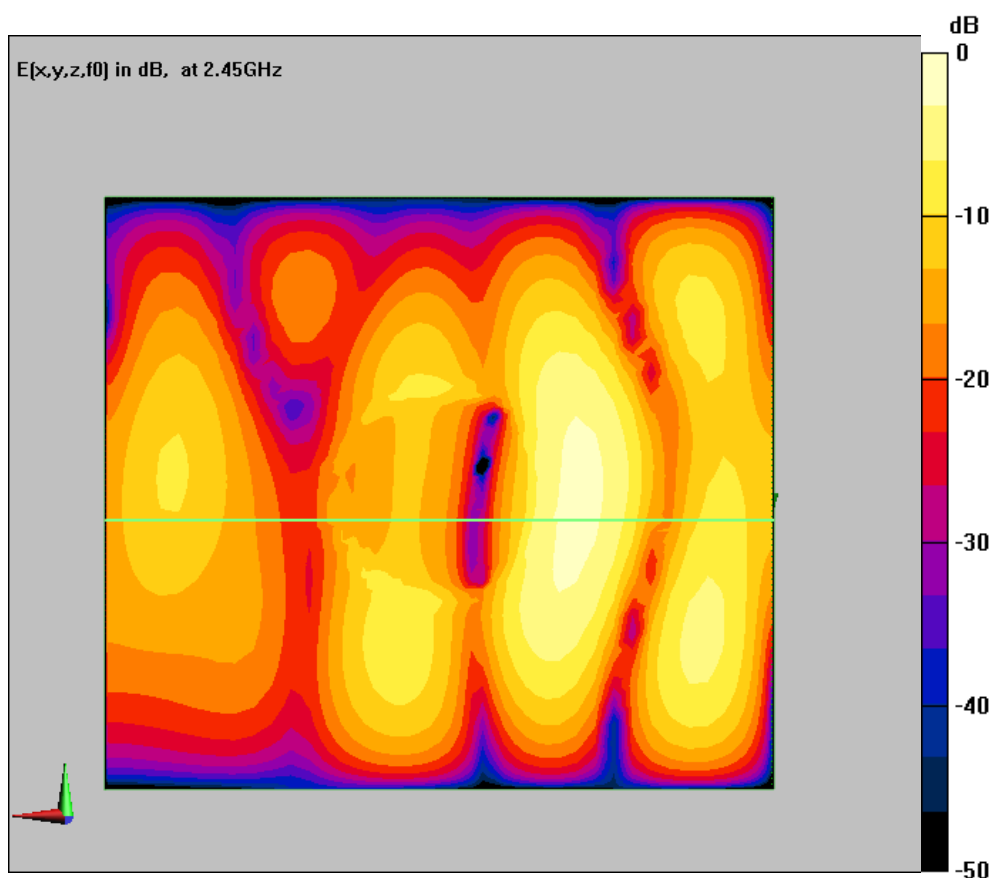


Figura 3.3 - Campo eléctrico no interior do forno de microondas na presença das bactérias.

Comparando as duas figuras, podemos verificar que campo eléctrico na presença das bactérias sofre uma perturbação. A cultura de bactérias possui propriedades eléctricas particulares que interferem com o campo no interior da



cavidade. Numa secção posterior são apresentadas essas propriedades e feita a discussão da sua influência sobre o campo eléctrico.

### 3.3. Cavidade ressonante

---

Um outro método de estudar a influência da radiação de microondas nas bactérias, envolve a utilização de uma cavidade ressonante. Neste, a polarização do campo eléctrico é bem determinada, bem como a sua intensidade ao longo da cavidade. Como vamos obter o efeito de ressonância, a potência a incidir sobre as bactérias é muito pequena, evitando assim o aquecimento em demasia.

Assim começamos por fazer um dimensionamento da cavidade. Este foi conseguido através da expressão (2.47)

$$f = \frac{1}{2\sqrt{\mu\epsilon}} \sqrt{\left(\frac{m}{a}\right)^2 + \left(\frac{n}{b}\right)^2 + \left(\frac{p}{c}\right)^2},$$

em que  $a$ ,  $b$  e  $c$  são as dimensões da cavidade e  $m$ ,  $n$  e  $p$  os modos.

Usando o modo fundamental  $TE_{10}$ , isto é,  $n = 0$ , a expressão anterior reduz-se a

$$f = \frac{1}{2\sqrt{\mu\epsilon}} \sqrt{\left(\frac{m}{a}\right)^2 + \left(\frac{p}{c}\right)^2} \quad (3.1)$$

Através da expressão anterior verifica-se que a frequência de ressonância para o modo  $TE_{10p}$  depende das propriedades do meio dieléctrico ( $\mu$  e  $\epsilon$ ) e das dimensões  $a$  e  $c$  da cavidade. Dado que se pretende estudar materiais não magnéticos e a cavidade está, quase na sua totalidade, preenchida apenas com ar, podemos assumir que  $1/2\sqrt{\mu\epsilon} = 1,5 \times 10^8$  (SI).

Tendo o parâmetro  $a$  o valor de 47,5 mm, valor standard, pode facilmente determinar-se o valor do comprimento da cavidade, para um dado modo.

O campo eléctrico é máximo no centro da cavidade para um valor ímpar de  $p$ , isto é, de meios comprimentos de onda. Nas figuras seguintes apresentam-se a intensidade do campo  $E$  no interior da cavidade.

Optou-se pelo valor  $p = 5$ , que deveria obedecer às exigências pretendidas.

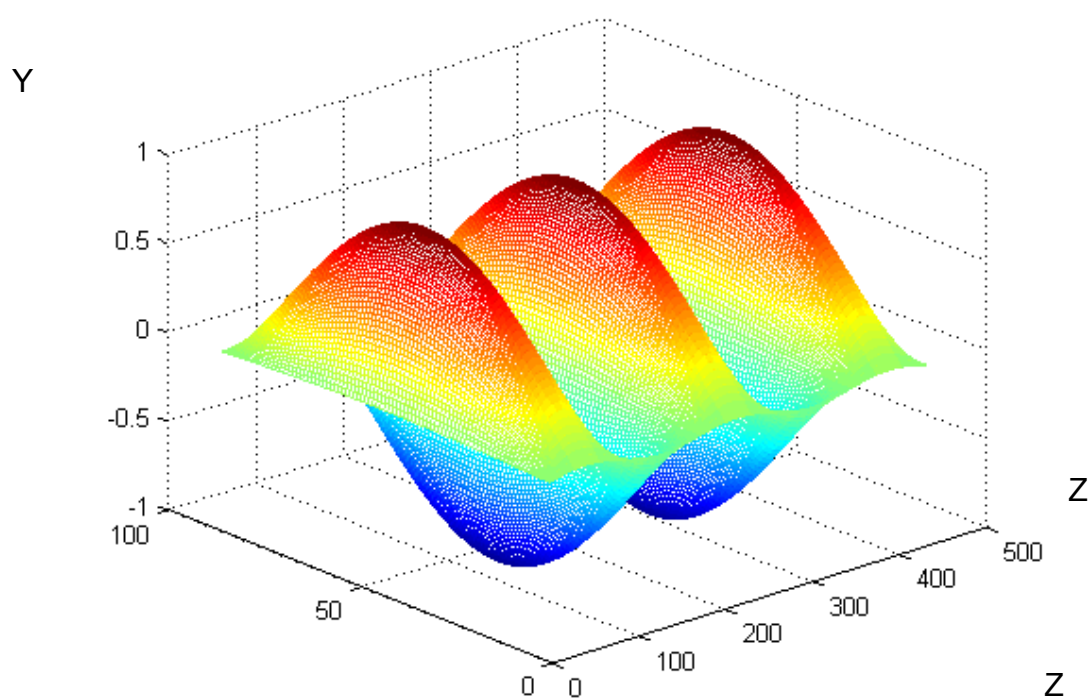


Figura 3.4 – Distribuição do campo eléctrico no interior da cavidade (3D).

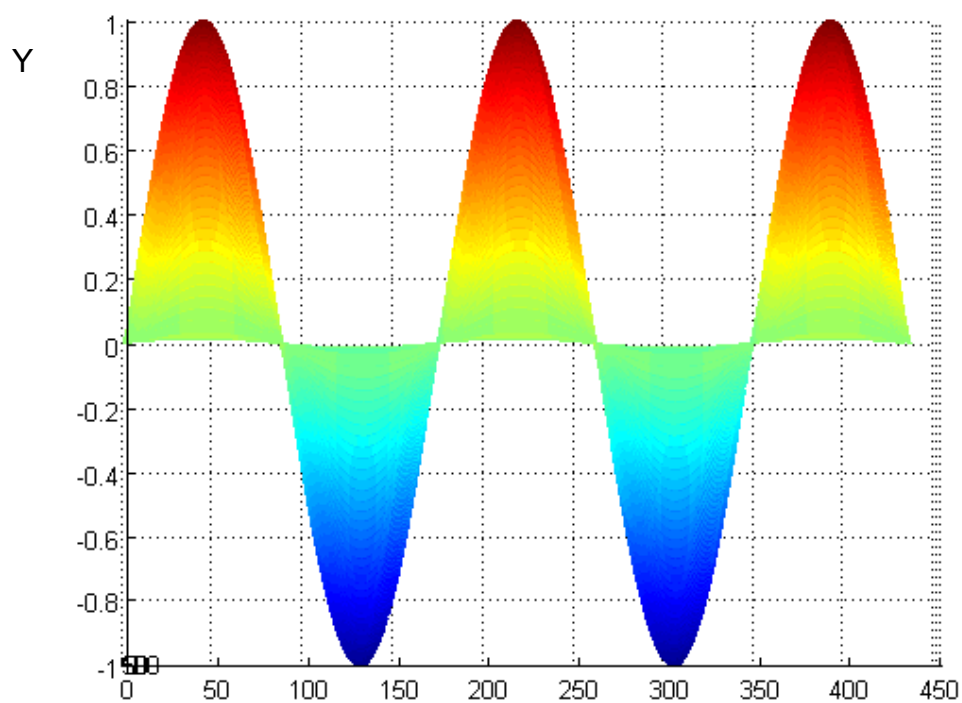


Figura 3.5 – Distribuição do campo eléctrico no interior da cavidade (2D).

Através da análise da figura podemos verificar que o máximo do campo eléctrico encontra-se no centro geométrico da cavidade.

O esquema da cavidade final encontra-se descrito na figura 3.6.

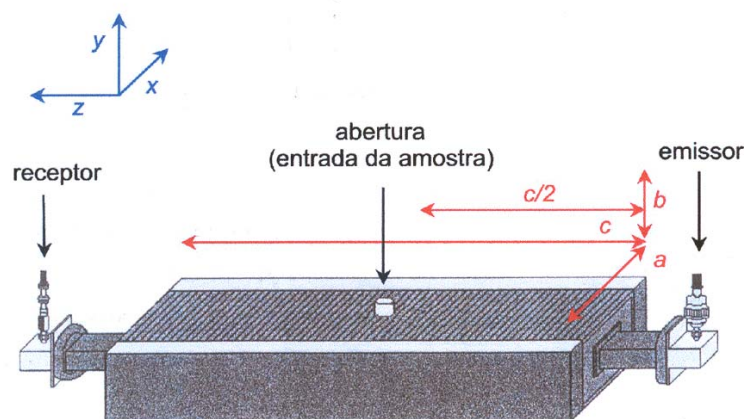


Figura 3.6 – Esquema da cavidade ressonante rectangular de 2,45 GHz, onde  $a=47,5$  mm,  $b=43,23$  mm e  $c= 340,50$  mm. Na posição  $c/2$  encontra-se a abertura da cavidade, na qual são introduzidos os porta-amostras (Sousa J. P., 2002).

No nosso caso, a onda é introduzida no interior da cavidade através do forno de microondas (figura 3.7). Este serve apenas como atenuador, pois a potência fornecida pelo magnetron é muito elevada para ser aplicada directamente na cavidade ressonante. A introdução de diferentes cargas no forno, permite fazer diferentes absorções de radiação. Assim, a potência disponível para o interior da cavidade pode ser variada.

Dado que uma cavidade apresenta teoricamente uma infinidade de modos de ressonância, é possível ter-se um número infinito de frequências de ressonância. No entanto, só algumas são de interesse.

Para uma aplicação específica, na maior parte dos casos a cavidade é projectada e acoplada de maneira a um único modo ressonante seja excitado, geralmente o modo dominante.

O modo de acoplamento depende fundamentalmente das configurações de campo no interior da cavidade para o modo desejado, e pode ser feito através de uma íris (Devesa S., 2004).



Figura 3.7 – Cavidade ressonante acoplada ao atenuador.

Na extremidade da cavidade encontra-se uma antena receptora, que permite observar a transmissão da cavidade, usando um analisador de rede.

### 3.4. Potência fornecida à amostra na cavidade

---

Por forma a calcular a potência no interior da cavidade utilizamos um analisador de rede. Este mede as características de reflexão e transmissão de dispositivos e de redes, ou seja, mede os parâmetros  $S_{nm}$ , que são uma convenção utilizada para caracterizar a potência transmitida ou reflectida de um dado sinal. O índice  $n$  refere-se à porta do equipamento em teste onde o sinal está a emergir, e o índice  $m$  à porta do equipamento em teste onde o sinal incide. O parâmetro  $S_{nm}$  é uma relação de duas quantidades, a amplitude emitida  $S_m$  e a fase  $\theta$  do sinal recebido em relação ao sinal emitido

$$S_{nm} = S_m e^{-i\theta_n} \quad (3.2)$$

O sistema de medida do analisador de rede é composto por gerador de sinal, dispositivo separador de sinal, receptor e écran.

Uma das principais características do analisador de rede consiste no facto de permitir caracterizar completamente a direcção de propagação com uma simples ligação (Devesa S., 2004). Neste caso, a recolha de dados experimentais foi feita com recurso ao analisador de rede HP 8753D, sendo a análise feita em transmissão, isto é, medindo  $S_{12}$ .

Usando diferentes cargas no atenuador, podemos controlar a potência da radiação incidente nas bactérias.

Assim, inicialmente começou-se por calcular a potência fornecida pelo forno de microondas. Para tal colocou-se uma determinada quantidade de água no interior da cavidade do forno de microondas e posteriormente fomos medir a variação de temperatura,  $\Delta T$ , sofrida pela água, num certo intervalo de tempo,  $\Delta t$ . Recorrendo à expressão (Thuery J., 1992)

$$P_M = \frac{c_p \Delta T}{\Delta t} \quad (3.3)$$

em que  $c_p$  é a capacidade térmica mássica da água. Obtivemos o valor da potência fornecida pelo microondas, que foi 800 W.

Para calcular a atenuação com diferentes cargas, foi retirado o magnetrão e no seu lugar colocada uma antena, como a ilustrada na figura 3.8.



Figura 3.8 – Antena de microondas.

Utilizada a antena receptora da cavidade ressonante foram medidos os parâmetros  $S_{12}$  para as diversas cargas, que foram um copo de vidro com diferentes quantidades de água. Sabendo a potência fornecida pelo magnetirão é então possível calcular a potência inserida na cavidade.

Na figura 3.9 pode ser observado a atenuação, para três cargas diferentes a potências de radiação incidente de 8 mW (carga 3), 80 mW (carga 2) e 700 mW (carga 1), que são introduzidas na cavidade.

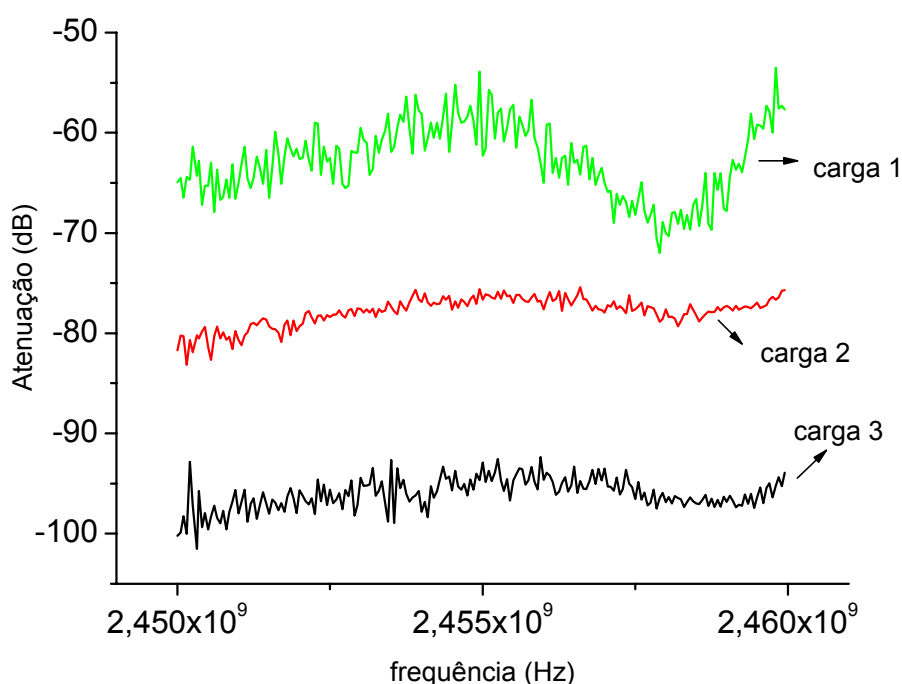


Figura 3.9 – Atenuação para diferentes cargas.

### 3.5. Cultura de bactérias

---

A *Escherichia coli* é um habitante normal do trato intestinal dos animais (incluindo o homem) e exerce um efeito benéfico sobre o organismo, suprimindo a multiplicação de bactérias prejudiciais e sintetizando uma considerável quantidade de vitaminas.

Entretanto, dentre as estirpes de *E. coli*, há um grupo capaz de provocar doenças em seres humanos, colectivamente chamadas de *E. coli* enteropatogénicas

(EEC). Essas estirpes ocupam hoje o segundo lugar entre os principais agentes doenças de origem alimentar (Olsen S. J., 2000).

Essas estirpes de *E. coli* enteropatogénicas encontram-se normalmente em alimentos como carne bovina, frutas, vegetais e saladas.

Para manter bactérias em laboratório, recorre-se a meios de cultura que contêm todos os nutrientes necessários para a multiplicação das células. Os meios de cultura são preparações sólidas, líquidas ou semi-sólidas, e permitem conservar microrganismos viáveis no laboratório, sob a forma de culturas puras.

Os meios de cultura devem ter na sua composição, os nutrientes indispensáveis ao crescimento do organismo em questão, sob forma assimilável e em concentração não inibitória do crescimento. Além disso, após a sua preparação, cada meio de cultura deve ser submetido a esterilização, por forma a eliminar qualquer organismo vivo contaminante. Por outro lado, para manter uma cultura pura, é necessário que o meio de cultura que se pretende utilizar seja mantido desprovido de qualquer organismo vivo contaminante. Para a prevenção de contaminações durante a manipulação de culturas puras, recorre-se a técnicas de assepsia.

De um ponto de vista geral, os meios de cultura podem ser classificados tendo em conta o seu estado físico, a sua composição química e os objectivos funcionais a que se destinam.

Assim, durante a realização experimental utilizamos um meio de cultura líquido LB (Luria Broth) e um meio de cultura sólido, LA (Luria, agarizado).

A preparação do meio de cultura LB, entra-se descrito a seguir:

- 1) Diluir 6,25 g de LB (Merck) liofizado em 250 ml de água destilada;
- 2) Autoclavar o meio de cultura preparado anteriormente.

O procedimento utilizado para preparar o meio de cultura sólido (LA) foi o seguinte:

- 1) Pesar 6,25 g de LB e 5 g de Agar-Agar (Merck);
- 2) Adicionar os dois reagentes pesados anteriormente e diluir em 250 ml de água destilada;
- 3) Autoclavar o meio de cultura preparado;
- 4) Fundir o meio de cultura e distribuir o respectivo meio por placas de Petri.

As culturas bacterianas foram preparadas para o estudo de acordo com o procedimento seguinte:

- 1) Crescer *Escherichia coli* ATCC 25922 em LB “overnight” a 37°C e a 200 rpm;

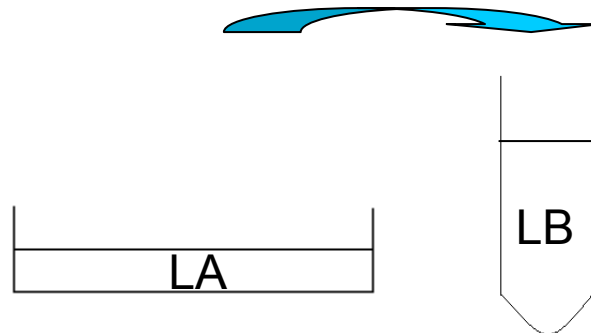


Figura 3.10 – Preparação de cultura de *E. coli* ATCC 25922 em meio LB.

- 2) Fazer um pré-inóculo. Para tal é diluído 1 mL da solução anterior em 7 mL de LB;

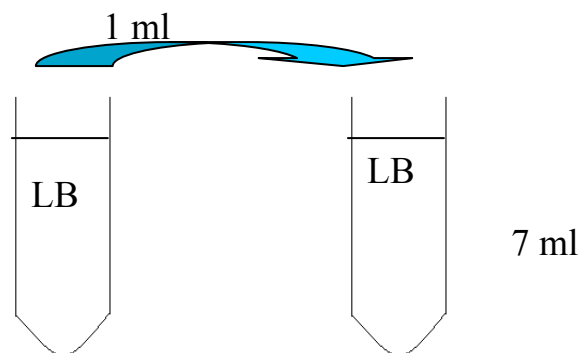


Figura 3.11 – Preparação do pré- inóculo de *E. coli* .

- 3) Colocar a solução anterior a 37°C a 200 rpm até atingir a absorvância de 0,6 a 600 nm;
- 4) Após ser atingida a absorvância supracitada, retirar da solução anterior 50 µL e diluir em 50 ml de NaCl a 0,9 %;

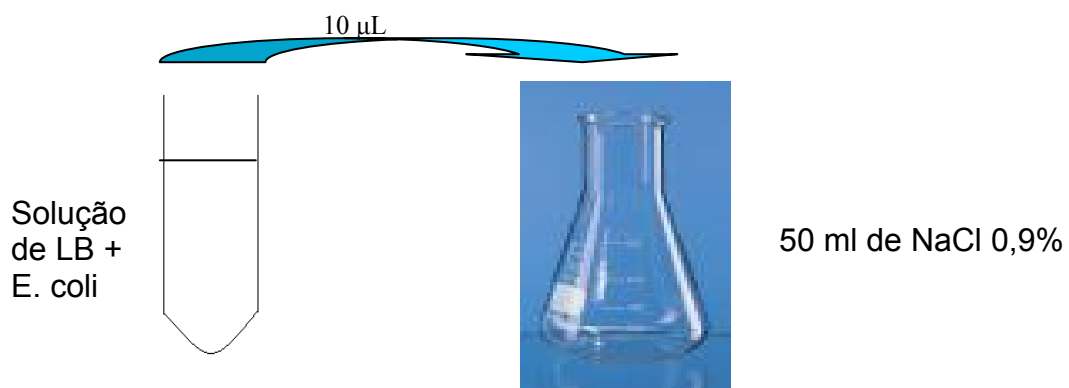


Figura 3.12 – Diluição da cultura bacteriana em NaCl a 0,9 %.



- 5) Verter o conteúdo para uma placa de petri;
- 6) Fazer duas soluções uma com a concentração  $10^{-2}$  e outra com  $10^{-4}$ . Para tal, retirar 10 $\mu$ L da solução anterior para um microtubo que contém 1000  $\mu$ L de NaCl. Para a diluição  $10^{-4}$ , retirar 10 $\mu$ L da solução  $10^{-2}$  para um microtubo que contém 1000  $\mu$ L de NaCl;

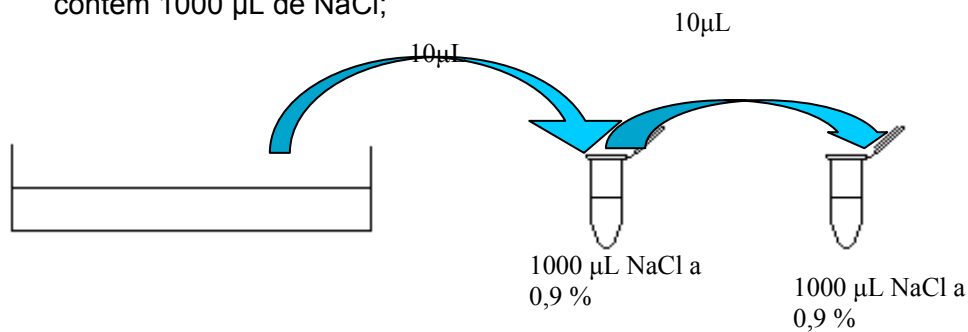


Figura 3.13 – Diluição da cultura bacteriana.

- 7) Retirar 100  $\mu$ L de cada uma das soluções e semear em LA. Estas placas vão ser o zero;

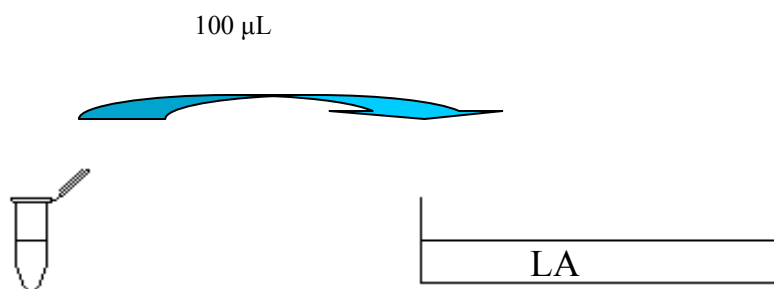


Figura 3.14 – Sementeira das células bacterianas em meio de cultura sólido (LA) .

- 8) Colocar as placas na estufa durante 24 h;
- 9) Contar o número de colónias em cada placa;



Figura 3.15 – Colónias de bactérias sobreviventes à radiação de microondas.

### 3.6. Controlador de tempo

---

O controlador de tempo de exposição à radiação de microondas deve ser bastante preciso. Daí a necessidade de projectar e implementar um controlador baseado num temporizador 555, que permita seleccionar tempos mais curtos ou mais longos. Este dispositivo é colocado em série com a fonte de alimentação do magnetron.



Figura 3.16 – Controlador electrónico do tempo de funcionamento do forno de microondas.

Na figura 3.17 apresenta-se o esquema do circuito temporizador (<http://www.doctronics.co.uk/555.htm#monostable>).

Nesta o número 1, 2 e 3 correspondem respectivamente ao negativo da alimentação, entrada de disparo e saída. O terminal 4 corresponde ao “reset”, 5 corresponde à entrada da tensão externa de controlo e 6 é o sensor de nível de tensão. Pelo terminal 7 efectua-se a descarga do condensador da rede  $R_1C$  externa e por fim o terminal 8 corresponde ao positivo da fonte de alimentação (5 V a 15 V), e  $C=1\text{mF}$ , e  $R_1$  variável.

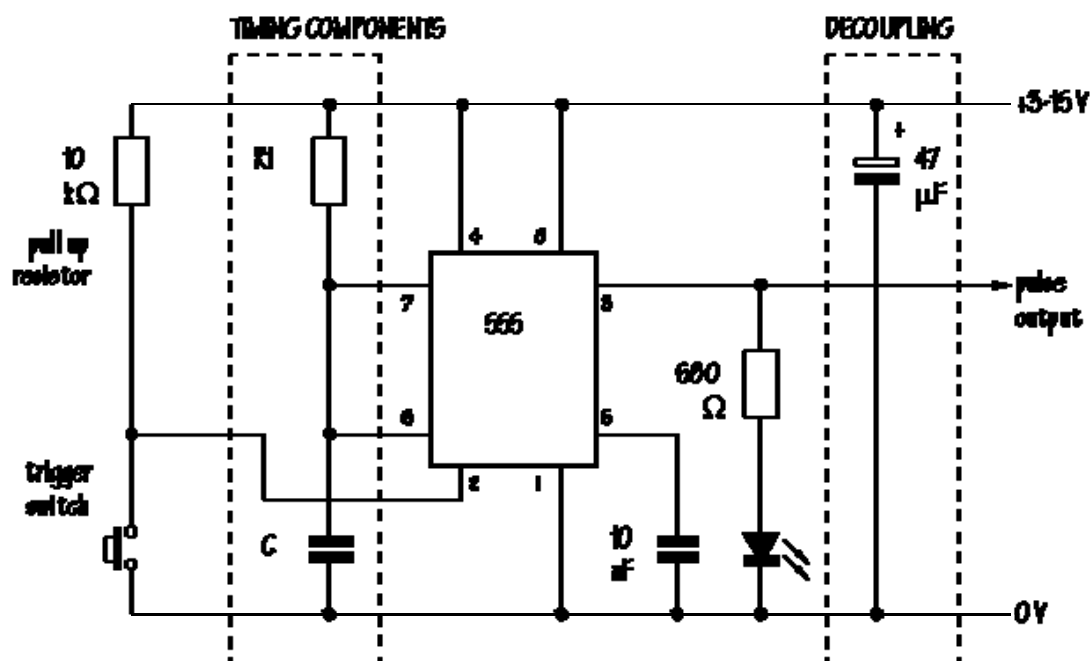


Figura 3.17 – Esquema eléctrico do “timer” 555.

Com este controlador temos 9 tempos de funcionamento diferentes, actuando directamente na parte de alimentação do magnetirão.

A figura supracitada representa o esquema básico para que o 555 funcione como multivibrador monoestável. O primeiro requisito é que os terminais 1 e 8 estejam a receber uma tensão entre 5 e 15 V. O terminal 5 (entrada da tensão de controlo externo), na maioria dos casos não precisa de ser utilizado. O terminal 2 de comando, responsável pelo disparo do monoestável, deve estar a um potencial positivo, quando em repouso. Pressionando o interruptor “trigger switch” aplica-se um impulso negativo ao terminal 2 de disparo com o que será dado início ao período de temporização. Os terminais 6 e 7 responsáveis respectivamente pelo “sensor de nível de tensão” e “descarga do condensador externo” estão juntos e a eles são ligados os componentes externos responsáveis pela temporização, ou seja, a resistência  $R_1$  (ao positivo da alimentação) e o condensador C (ao negativo da alimentação). Podemos observar que o terminal 4 “reset” para não interferir no processo de temporização deve permanecer em repouso, ligado ao positivo da alimentação. A saída da temporização é obtida no terminal 3.

Como o nosso objectivo era seleccionar diferentes tempos de exposição à radiação, no circuito descrito anteriormente na figura 3.17 onde se encontra

representada a resistência  $R_1$  colocamos uma série de resistências em paralelo para controlarmos tempos desde 1s a 43 s. A escolha de resistência adequada para fornecer um determinado tempo de exposição é efectuada com o auxílio de um comutador.

O período de exposição é dado por:

$$\tau = 1.1(R \times C) \quad (3.4)$$

em que  $\tau$  é o tempo de temporização.

Na tabela III.1 apresentam-se as resistências utilizadas, bem como os tempos de exposição correspondentes.

Tabela III.1 – Tempos ( $\tau$ ) controlados pelo temporizador.

<b>R( k<math>\Omega</math>)</b>	<b><math>\tau</math> (s)</b>
1	1.1
2.2	2.4
3.9	4.3
4.7	5.2
10	11
12	13.2
15	16.5
22	24.2
33	36.3
39	43

À saída do circuito foi acoplado um transístor por forma a ampliar a corrente de saída, que actua um relé que activa ou não a fonte de alimentação do magnetirão.

Na figura 3.18 representa-se, em diagrama de blocos o dispositivo utilizado.

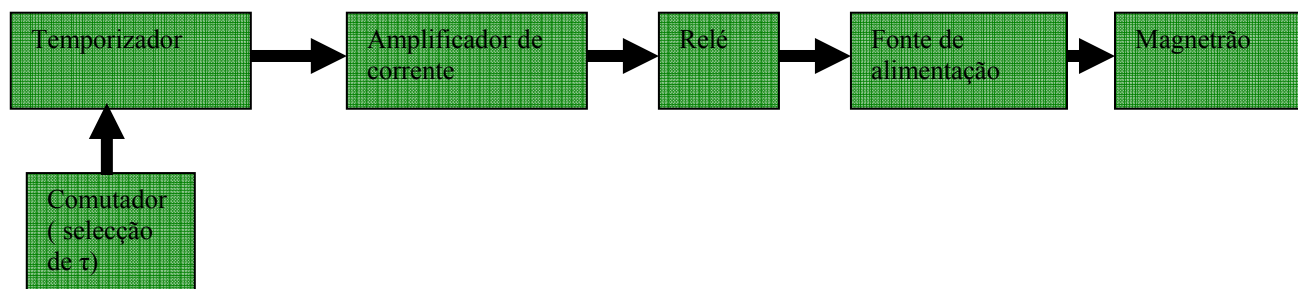


Fig. 3.18 – Diagrama de blocos do controlador de tempo.

## 3.7. Métodos de determinação de permitividade complexa da cultura de bactérias

---

### 3.7.1. Método da espectroscopia de impedâncias

A permitividade eléctrica de um material não é constante, sendo normalmente dependente da frequência. Este fenómeno está associado com a polarização dos dipolos eléctricos, que, por sua vez, depende da frequência de relaxação de cada material.

Um modelo simples consiste em considerar a amostra a estudar como constituída por uma resistência em paralelo com um condensador. A resistência é função da condutividade, isto é, pode relacionar-se com a parte imaginária da permitividade,  $\varepsilon''$ , e o condensador é função da constante dieléctrica, isto é, da parte real da permitividade,  $\varepsilon'$ .

No nosso estudo usamos como eléctrodos dois condutores paralelos cilíndricos, de comprimento 6 cm e diâmetro 1,27 cm.

Estes eléctrodos colocam-se numa solução de cultura como se mostra na figura 3.19.

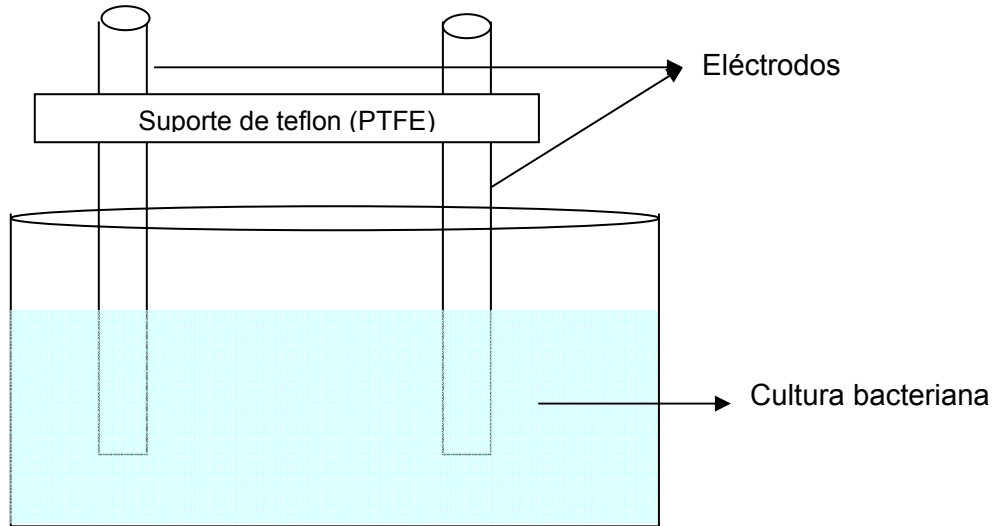


Figura 3. 19 – Sistema de medida da permitividade da cultura de bactérias.

Para efectuar as medidas de R e C, a partir das quais se calcula  $\varepsilon''$  e  $\varepsilon'$  respectivamente, foi utilizado um medidor de impedâncias HP 4285A.

A capacidade por unidade de comprimento,  $\frac{C}{l}$ , está relacionada com a parte real da permitividade através da seguinte expressão

$$\frac{C}{l} = \frac{12,1 \cdot \varepsilon' \varepsilon_0}{\log \left[ \left( \frac{h}{r} \right) + \sqrt{\left( \frac{h}{r} \right)^2 - 1} \right]} \quad (3.5)$$

onde  $h$  é a altura da solução,  $r$  é o raio dos eléctrodos ( Kraus J., 1973).

Por sua vez, a parte imaginária da permitividade está relacionada com a resistência por unidade de comprimento através de

$$\frac{R}{l} = \frac{\log \left[ \left( \frac{h}{r} \right) + \sqrt{\left( \frac{h}{r} \right)^2 - 1} \right]}{12,1 \omega \varepsilon_0 \varepsilon''} \quad (3.6)$$

onde  $h$  é a altura da solução,  $r$  é o raio dos eléctrodos e  $\omega$  é a frequência angular (Kraus J., 1973).

### 3.7.2. Método da cavidade

Uma determinada cavidade é caracterizada por uma frequência fundamental de ressonância,  $f_0$ , e por um factor de qualidade,  $Q$ , tal que  $f_0 = QW$ , sendo  $W$  a largura de banda da cavidade à frequência de ressonância. Quando se introduz uma amostra na cavidade, há uma perturbação do campo eléctrico aí existente, função das propriedades do material que constitui a amostra. Essa perturbação traduz-se por variações da frequência de ressonância,  $\Delta f$ , e do factor de qualidade,  $\Delta Q$ .

Quando a perturbação é fraca, isto é, quando o campo eléctrico na vizinhança da amostra não é alterado pela sua introdução na cavidade, pode ser aplicada a teoria das pequenas perturbações, e da qual se obtém

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -A F(x, y, z) \frac{v}{V} (\varepsilon' - 1) \quad (3.7)$$

$$\Delta \left( \frac{1}{Q} \right) = \frac{A}{2} F(x, y, z) \frac{v}{V} \varepsilon'' \quad (3.8)$$

sendo,  $v$  o volume perturbador,  $V$  o volume da cavidade,  $F(x, y, z)$  o factor de forma do material e  $A$  uma constante de proporcionalidade. Assim, e mediante determinadas condições de aplicabilidade da teoria das pequenas perturbações, as expressões anteriores podem ser escritas da forma,

$$(\varepsilon' - 1) \frac{v}{V} = K \frac{f_0 - f_m}{f_0} \quad (3.9)$$

$$\varepsilon'' \frac{v}{V} = \frac{K}{2} \Delta \left( \frac{1}{Q} \right) \quad (3.10)$$

$K$  é o factor de despolarização, que não é normalmente conhecido, pois depende de múltiplos factores, como as formas e as dimensões da amostra e da cavidade, e

$$\Delta\left(\frac{1}{Q}\right) = \frac{1}{Q_m} - \frac{1}{Q_0} \quad (3.11)$$

$$\Delta f = f_0 - f_m \quad (3.12)$$

em que “0” e “m” são os índices referentes à cavidade vazia e com a amostra, respectivamente.

Recorrendo a uma amostra com permitividade complexa conhecida podemos determinar o factor de despolarização. Neste caso particular optou-se por uma amostra de politetrafluoretileno (PTFE).

Na figura seguinte apresenta-se a transmissão de uma cavidade para três situações diferentes: cavidade vazia e com duas amostras.

O estudo efectuado utilizou um analisador de rede HP 8753D centrado na frequência de 2,45 GHz.

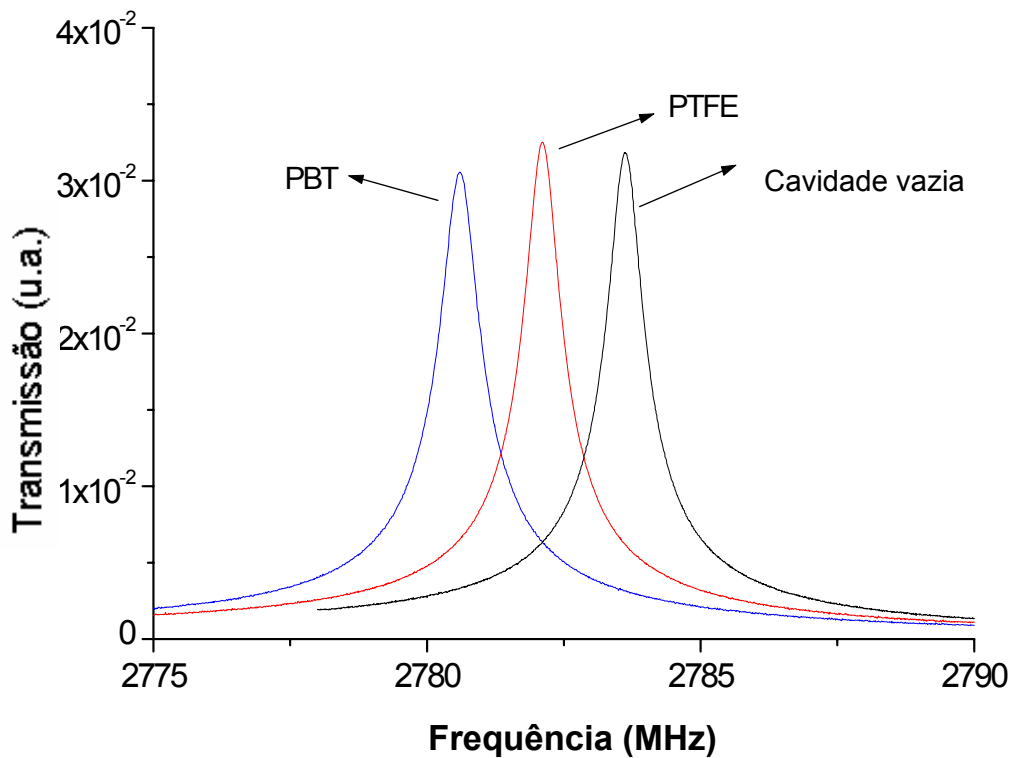


Fig. 3.20 – Transmissão da cavidade vazia e com duas amostras diferentes (Costa L. C., 1995).



## Bibliografia

- Costa L. C., *Propriedades eléctricas de vidros com alguns iões de terras raras*, tese de doutoramento, Universidade de Aveiro, 1995.
- Devesa S., *Propriedades eléctricas de polímeros para aplicações industriais na banda das microondas*, Universidade de Aveiro, 2004.
- Krauss J., Caaver K., *Electromagnetics*, McGraw-Hill, Tokyo, 1973.
- Olsen S. J., Mackinon L.C., Goulding J.S., *Surveillance for foodborne disease outbreaks*, Morbidity and Mortality Weekly Report 49, 2000, 1-51.
- Sousa J P, *Propagação em Cavidades Ressonantes : Aplicação em Métodos de Medida e em Fornos Microondas*, Universidade de Aveiro, 2002.
- Thuery J., *Microwaves: Industrial, Scientific and medical Applications*, Artech House Boston, London.
- <http://www.doctrionics.co.uk/555.htm#monostable>.

## 4. Apresentação e discussão dos resultados

## 4. Apresentação e discussão dos resultados

### 4.1. Forno de microondas

---

Tendo sempre presente o objectivo inicial do trabalho, que é estudar o efeito da exposição das bactérias à radiação das microondas, e tendo em conta os meios disponíveis para fazer esse estudo, começou-se por analisar qual a diluição ideal para o estudo. Assim, começamos por colocar as bactérias no interior da cavidade do forno, de acordo com o descrito na secção 3.1. Posto isto estudou-se duas diluições possíveis para o estudo, encontrando-se os resultados nas tabelas IV. 1 e IV. 2.

Tabela IV.1 – Contagem do número de colónia bacterianas para a diluição  $10^{-5}$ .

Diluição $10^{-5}$	
Tempo (s)	Nº de colónias
0	668
1	480
2	86

Tabela IV.2 – Contagem do número de colónias bacterianas para a diluição  $10^{-7}$ .

Diluição $1 \times 10^{-7}$	
Tempo (s)	Nº de colónias
0	15
1	2
2	1

Através da análise dos resultados experimentais obtidos, pode-se concluir que a melhor concentração a utilizar seria a correspondente a uma diluição de  $10^{-5}$ , uma

vez que os resultados obtidos para uma diluição de  $10^{-7}$  não têm significado estatístico.

Foram então efectuadas exposições sucessivas das bactérias à radiação de microondas, com os tempos bem determinados, e com o magnetrão na sua potência máxima (800 mW). Na figura 4.1 representa-se o diagrama de blocos do sistema de radiação. Os resultados estão compilados na figura 4.2.

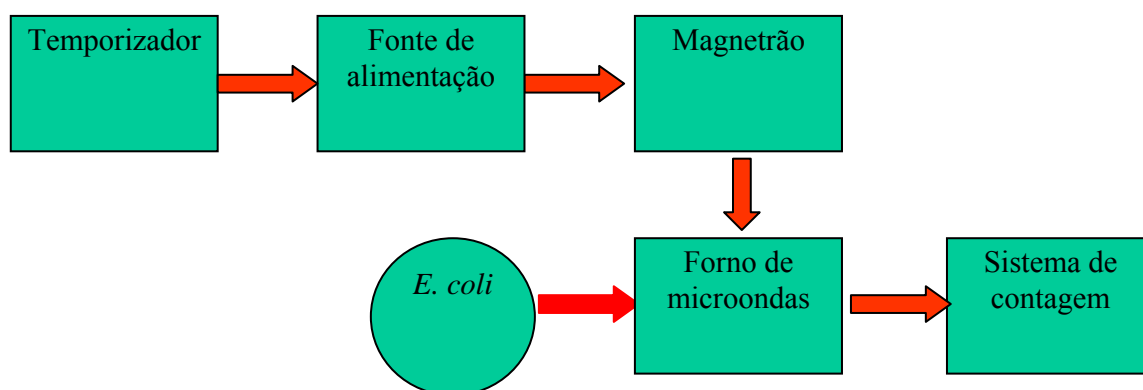


Figura 4.1 – Diagrama de blocos do sistema de exposição.

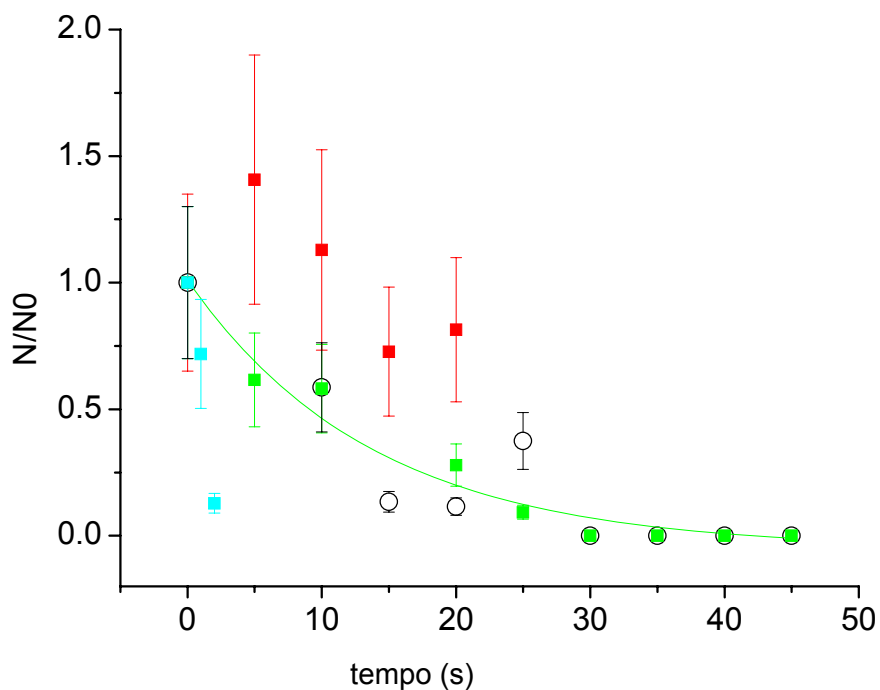


Figura 4.2 – Fração de bactérias sobreviventes ao longo do tempo de exposição à radiação de microondas.

Esta figura mostra o número relativo de bactérias sobreviventes, onde  $\frac{N}{N_0}$  é função do tempo de exposição à radiação do forno de microondas,  $t$ ,  $N$  é o número de bactérias sobreviventes e  $N_0$  é o número de bactérias inicial. O procedimento experimental, como foi referido anteriormente, foi repetido várias vezes, por forma a garantir a fiabilidade dos resultados. Verificamos que o erro no processo de contagem é considerável, sendo maior para tempos de exposição baixos, isto é, quando o número de bactérias é ainda elevado.

Os resultados experimentais podem ser aproximados por uma regressão polinomial

$$\frac{N}{N_0} = A + Bt + Ct^2 \quad (4.1)$$

Na tabela seguinte apresentam-se os resultados dos ajustes efectuados.

Tabela IV.3 – Constantes da regressão polinomial

A	B	C	$r^2$
0,94	-0,05	$6,6 \times 10^{-4}$	0,9899

Este comportamento é também observado na mortalidade de insectos quando expostos à radiação de microondas (Shayesteh N., 1996), e pode ser deduzida da teoria do “target” (Smith J. M., 1971), que mostra que quando o número de células não alteradas pela radiação é pequena, a proporção de células sobreviventes,  $\frac{N}{N_0}$ , é dada por:

$$\frac{N}{N_0} = 1 - D\alpha + \frac{(D\alpha)^2}{2} \quad (4.2)$$

onde  $\alpha$  é a dose de radiação e  $D$  é uma constante relacionada com o número de bactérias.

Supondo a dose de radiação proporcional ao tempo, a expressão (4.2) é semelhante à expressão (4.1) utilizada por nós.

Por forma a testar se os efeitos verificados na mortalidade celular eram devidos à temperatura, medimos a temperatura atingida pelo meio onde se encontravam as bactérias após cada exposição à radiação de microondas. Os resultados apresentam-se na figura seguinte.

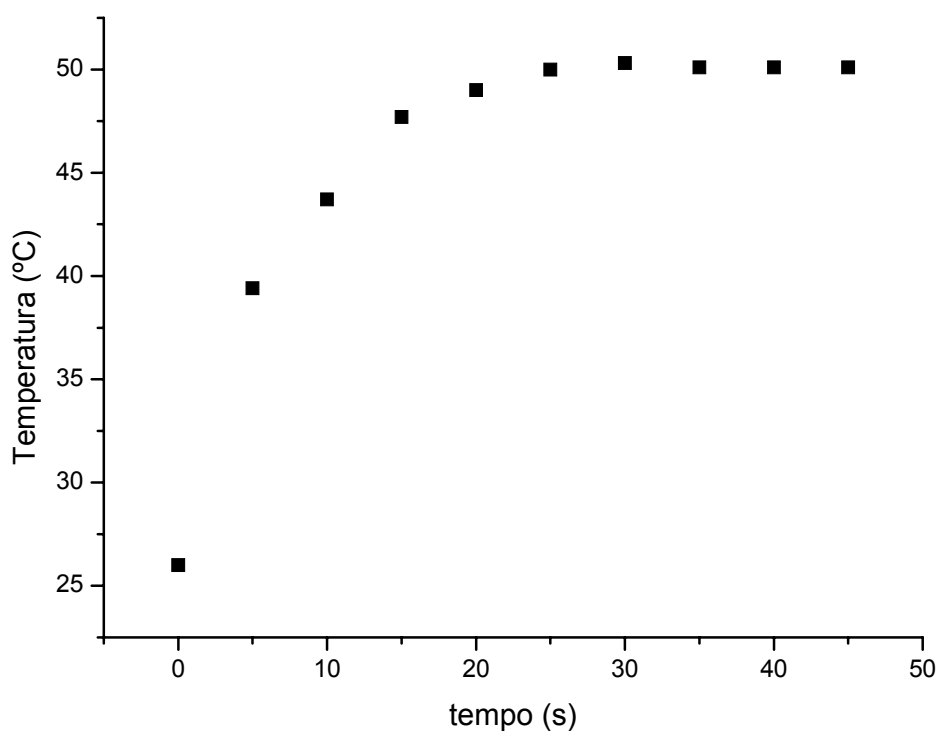


Figura 4.3 – Temperatura atingida pela suspensão bacteriana ao longo do tempo de exposição à radiação de microondas.

Assim, podemos verificar que a partir de aproximadamente 20 s de exposição a temperatura mantém-se constante e inferior à temperatura letal para este tipo de bactérias que se estima ser 60 °C (Bazhal M. I., 2005). Olhando para a figura 4.2 observa-se que após 20 segundos de exposição à radiação de microondas ainda se encontram bactérias sobreviventes, cerca de 30%, sendo a esterilização conseguida apenas com 30 s de exposição.

Embora a temperatura se mantenha constante, as bactérias continuam a morrer, o que pode significar que existe um outro efeito para além da temperatura que contribui para a diminuição das mesmas.

## 4.2. Cavidade ressonante

---

Na figura 4.4 encontra-se representado um diagrama de blocos do sistema que utiliza a cavidade ressonante para irradiar as bactérias.

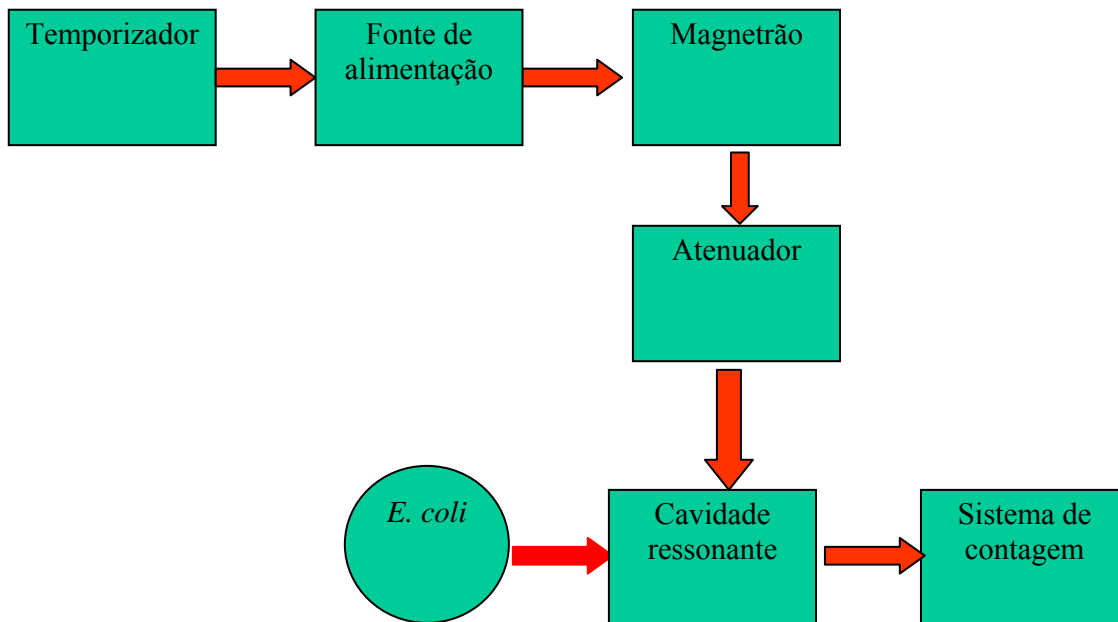


Fig. 4.4 – Diagrama de blocos do sistema de exposição.

Como atenuador foi utilizado um forno de microondas. Este está acoplado à cavidade ressonante, como se mostra na figura 3.7. No interior do forno são introduzidas diferentes cargas que absorvem grande parte da energia irradiada pelo magnetrão. De acordo com o método explicado no capítulo anterior, obtiveram-se potências radiadas para o interior da cavidade ressonante de 700 mW, 80 mW e 8 mW, como se mostra na figura 3.9.

A cultura de bactérias é introduzida na cavidade, usando um porta amostras de PTFE, que é um material de muito baixas perdas e que portanto não vai aquecer por efeito da radiação, nem vai absorver praticamente qualquer radiação. Sucessivos tempos de exposição são então usados, para as três diferentes potências da radiação. Os resultados estão compilados na figura 4.5.

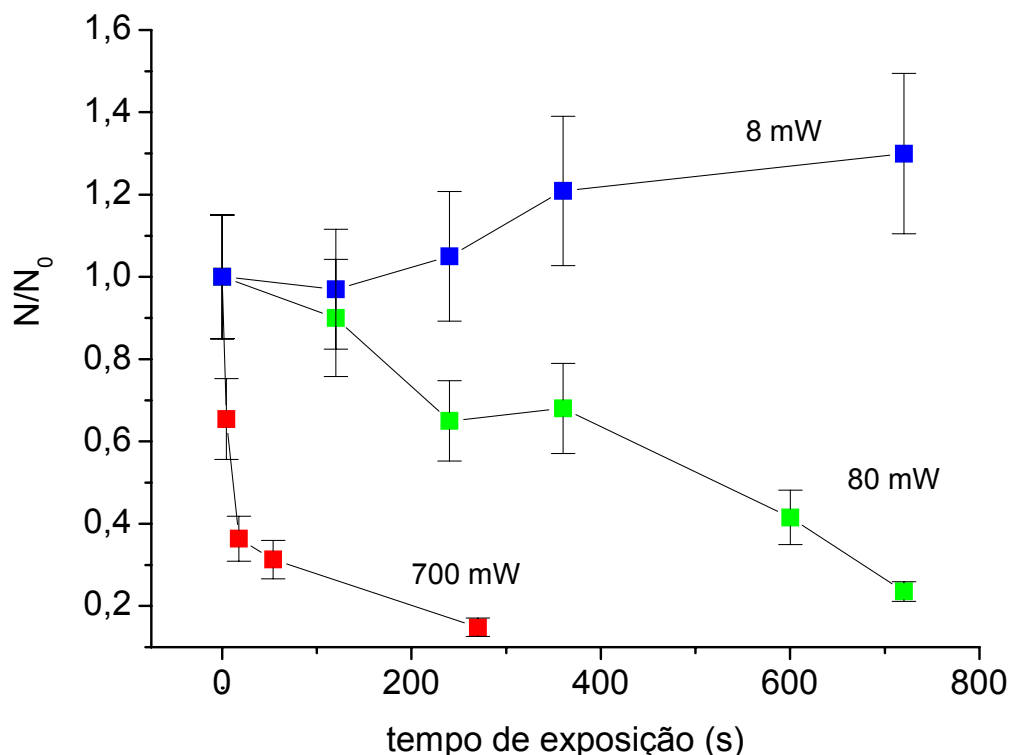


Figura 4.5 – Fracção de bactérias sobreviventes em função do tempo de exposição com diferentes potências de radiação incidente (Costa L. C., 2006).

Para a radiação com a potência de 8 mW, verifica-se que esta não produz qualquer efeito sobre as bactérias, uma vez que o número de sobreviventes ao longo do tempo praticamente não se altera, tendo em conta o intervalo de erro experimental associado. Assim, pode-se concluir que esta baixa potência de radiação incidente é muito pequena para produzir qualquer efeito bactericida.

Podemos também verificar que, para uma radiação incidente de 80 mW já se verifica um importante efeito de inactivação das bactérias. Para um tempo de cerca de 12 minutos, a diminuição do número de bactérias vivas é de cerca de 80%.

Para a potência mais elevada, isto é, 700 mW o efeito de inactivação é ainda mais pronunciado. Em cerca de 6 minutos, 80 % das bactérias foram inactivadas.

Pode-se então concluir que com o aumento da potência, pode diminuir-se consideravelmente o tempo necessário para inactivar células de *Escherichia coli* em cultura.

Durante todo o procedimento experimental a temperatura não excede os 37°C, temperatura muito inferior à temperatura de inactivação das bactérias *E. coli* (60°C) (Bazal M. I., 2005). Vale a pena também referir que 37 °C é a temperatura óptima de crescimento de *E. Coli*. De facto corresponde à temperatura do corpo humano que é o



habitat natural destes organismos. Assim, mantendo a temperatura inferior à temperatura de inactivação das bactérias é possível matar uma grande parte das mesmas.

Para determinar qual o ajuste a efectuar para a função de inactivação em função do tempo de exposição, fez-se uma representação semi-logarítmica, como se mostra na figura 4.6.

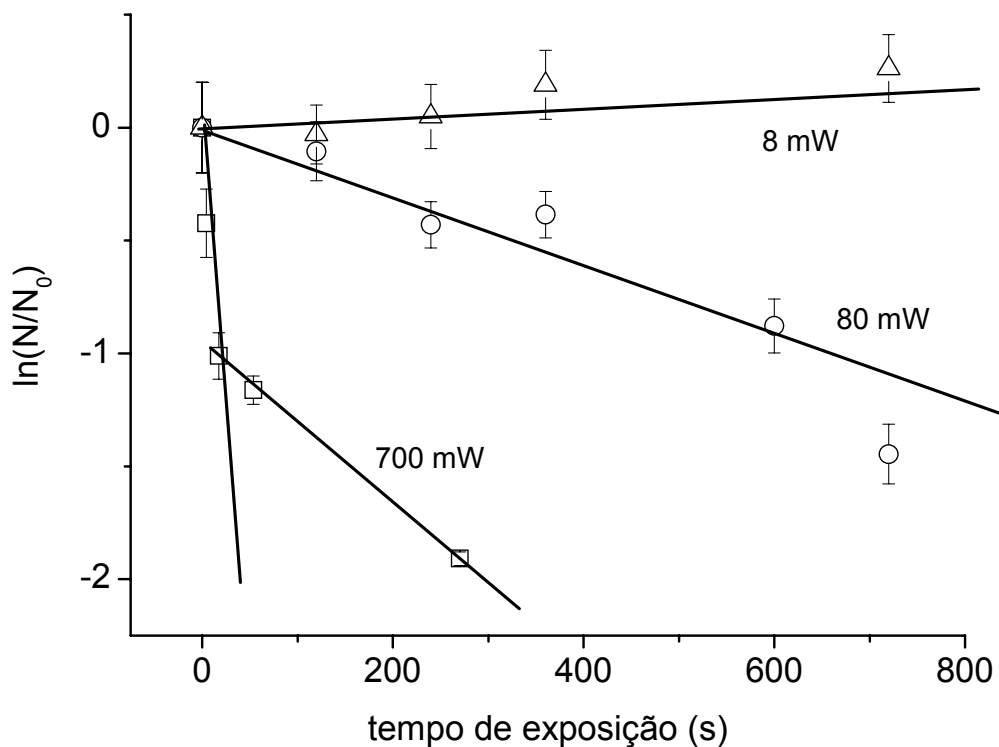


Figura 4.6 – Representação semi-logarítmica dos resultados para diferentes potências da radiação incidente.

É fácil verificar que, para a potência mais elevada, não é possível efectuar o ajuste com apenas uma função exponencial. A existência de duas rectas permite concluir ser possível fazê-lo, usando a soma de exponenciais,

$$\frac{N}{N_0} = A_1 \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) + A_2 \exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right) \quad (4.3)$$

com  $A_1 + A_2 = 1$

Quando  $\tau_1$  é muito diferente de  $\tau_2$ , esta soma de exponenciais apresenta uma representação semi-logarítmica duas rectas, como as observadas na figura. De notar que, para as potências mais baixas, a função usada pode ser uma única exponencial.

Na tabela IV.4 rescrevem-se os valores obtidos para os parâmetros da equação (4.3).

Tabela IV.4 – Parâmetros da equação de ajuste dos pontos experimentais.

Potência (mW)	$\tau_1$ (s)	$\tau_2$ (s)	$A_1$	$A_2$
700	19	285	0.65	0.45
80	530	----	1	0
8	$\infty$	----	1	0

## 4.3. Caracterização eléctrica das soluções

---

### 4.3.1. Baixas frequências

Recorrendo ao analisador de impedâncias HP 4285A, medimos  $C$ ,  $R$  e  $f$  e a partir das expressões (3.5) e (3.6)  $\varepsilon'$  e  $\varepsilon''$ , em função da frequência. Nas figuras seguintes estão representados os resultados.

Parte da solução é constituída por água, que por si só apresenta uma constante dieléctrica de cerca de  $\varepsilon' = 81$ , a baixa frequência.

Para o nosso estudo é crucial o conhecimento de  $\varepsilon''$ , e consequentemente da condutividade que com ele está relacionada. Para frequências mais elevadas, os valores de  $\varepsilon''$  são muito baixos, isto é, da ordem de  $10^{-3}$ , logo a condutividade também é baixa, uma vez, que a condutividade é directamente proporcional a  $\varepsilon''$  (expressão 2.10). Olhando para a expressão (2.48) é para o valor de  $\varepsilon''$  para altas frequências verifica-se que a solução não aquece.

Relativamente à profundidade de penetração e recorrendo à expressão (2.54), podemos concluir que esta é alta para baixas frequências.

De seguida apresentam-se os resultados para a permitividade em função da frequência.

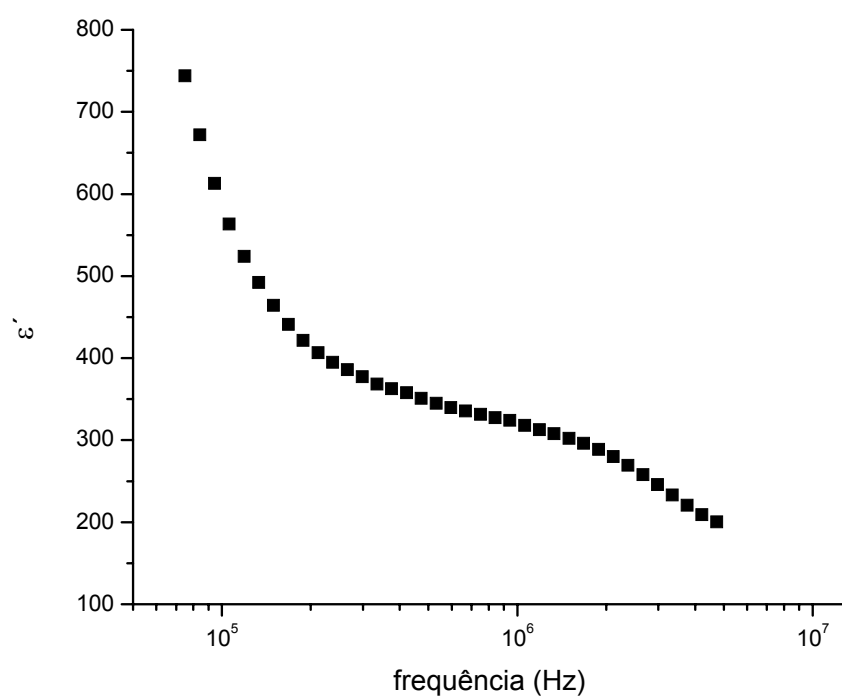


Figura 4.7 – Parte real da permissividade da cultura bacteriana em função da frequência aplicada.

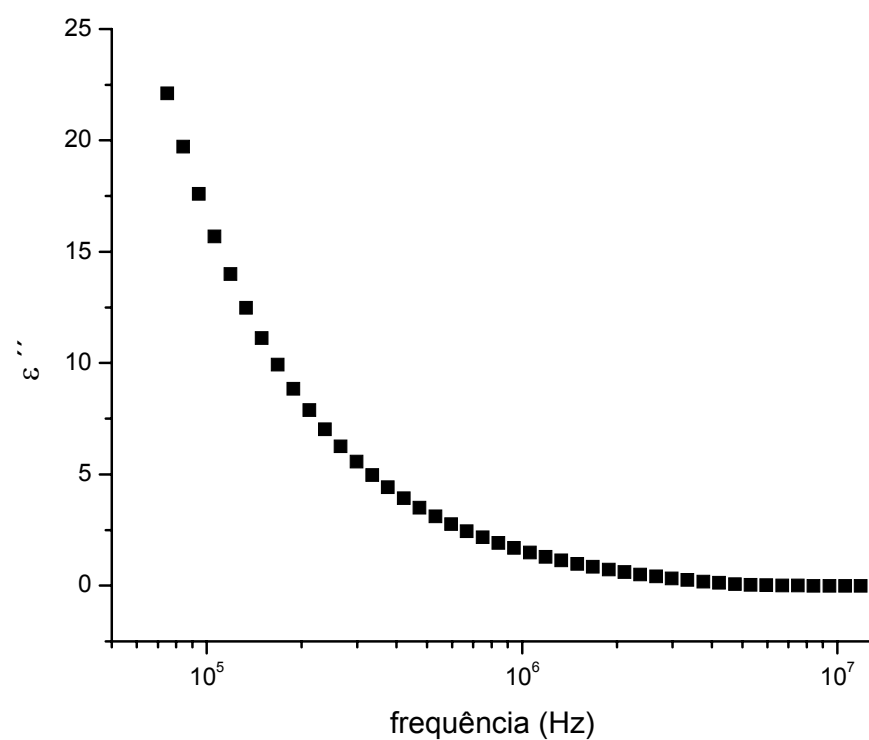


Figura 4.8 – Parte imaginária da permissividade da cultura bacteriana em função da frequência aplicada.

### 4.3.2. Microondas

Tendo por objectivo a caracterização eléctrica das bactérias a 2,45 GHz, utilizamos a cavidade ressonante atrás mencionada, conjuntamente com o HP 8753D Network Analyser, obtendo a magnitude da curva de ressonância em função da frequência.

Para determinar a permitividade do meio em que as bactérias *E. Coli* se encontram, recorreu-se à teoria das pequenas perturbações que relaciona as variações da frequência de ressonância da cavidade,  $\Delta f$ , o inverso do factor de qualidade,  $\Delta(\frac{1}{Q})$  e a permitividade complexa. Assim, recorrendo à expressão (3.9) e (3.10), determinaram-se as partes real e imaginária da permitividade.

Os resultados obtidos encontram-se no gráfico seguinte

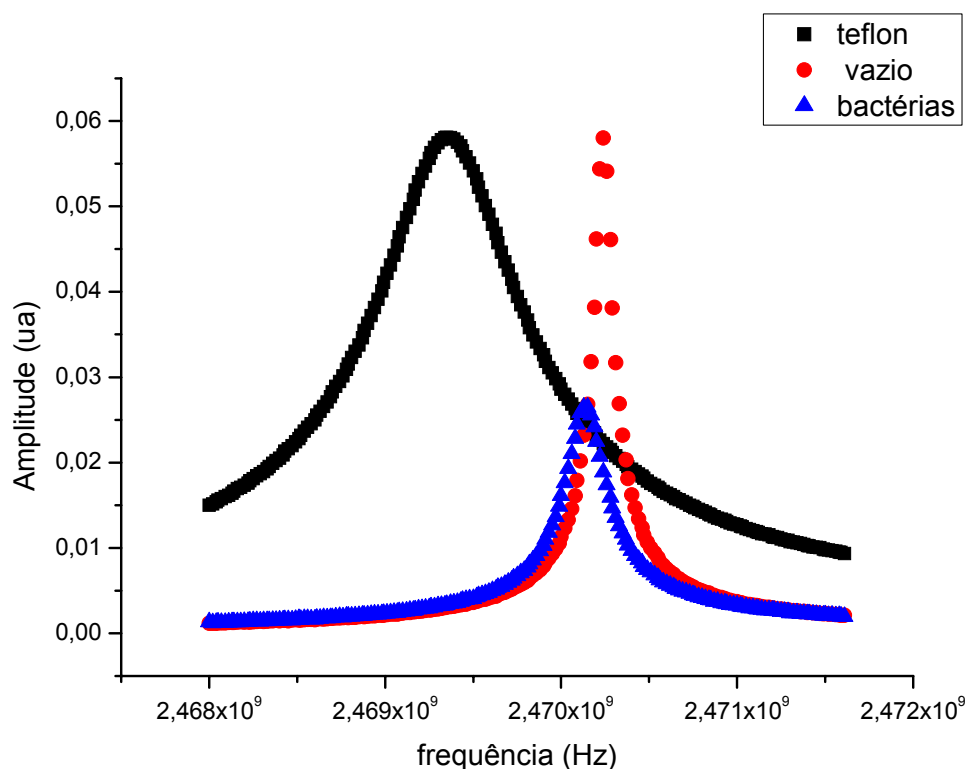


Figura 4.9 – Espectro da cavidade vazia, preenchida com PTFE e preenchida com a cultura de bactérias.

A figura 4.9 mostra a resposta em frequência da cavidade de 2,45 GHz quando vazia, preenchida por PTFE (teflon) e com a cultura de bactérias. O PTFE foi utilizado como padrão, o que permite calcular o factor de despolarização K das expressões (3.9) e (3.10), conhecendo o valor de  $\epsilon'$  daquele material.

Recorrendo às expressões teóricas (3.9) e (3.10), e ao valor  $\epsilon' = 2,1$ , tabelado para o PTFE (Inan U. S., 2000), foram calculados os valores de  $\epsilon'$  e  $\epsilon''$  para cada um dos materiais. Esses valores são apresentados na tabela IV.5.

Tabela IV.5 – Permitividade do PTFE e cultura de bactérias.

Material	$\epsilon''$	$\epsilon'$
PTFE (politetrafluoroetileno)	$3 \times 10^{-4}$	2,1
Cultura de bactérias	$8,22 \times 10^{-5}$	81,25

Através da análise dos resultados podemos verificar que ao introduzir quer o teflon, quer as bactérias na cavidade ressonante, observa-se uma diminuição do factor de qualidade. O factor de qualidade passa de 13631 quando a cavidade está vazia para 2636 ao introduzir o teflon e para 9087 quando se introduz as bactérias na cavidade.

O valor obtido para  $\epsilon''$  da cultura de bactérias é baixo, da ordem de  $10^{-5}$ , e portanto, não deverá haver aquecimento destas quando irradiado com um feixe de microondas.

## Bibliografia

- Inan U. S., Inan A. S., *Electromagnetic Waves*, Prentice Hall, New Jersey, 2000.
- Krauss J., Caaver K., *Electromagnetics*, McGraw-Hill, Tokyo, 1973.
- Bazal M. I., Ngadi M. O., Raghavan G. S. V., Smith J. P., *Inactivation of Escherichia coli O157:H7 in liquid whole egg using combined pulsed electric field and thermal treatments*, Swiss Society of Food Science and Technology, 2005.
- Costa L. C., Pereira M. G., Correia A., Carvalho M. J., *Inactivation of Escherichia coli using microwave radiation*, submetido a J. Food Quality.
- Costa L. C., Pereira M. G., Carvalho M. J., Correia A., *The effect of 2.45 GHz microwave radiation on microorganisms: a study on Escherichia coli*, Proc. EHE'06, 2.23-2.28, 2006.
- Shayesteh N., Barthakur N.N., *Mortality and Behaviour of Two Stored-product Insect Species During Microwave Irradiation*, J. Stored Prod. Res. 32, 1996, 239-246.
- Smith, J. M., *Mathem. Ideas in Biology*. London: Cambridge University Press, London, 1971, 87-97.

## 5. Conclusão

## 5. Conclusão

---

Tem vindo a ser exigido à indústria alimentar, por parte dos consumidores, produtos frescos e cada vez menos processados, sendo que a inactivação dos microrganismos assume um papel cada vez mais importante na preservação dos alimentos.

Vulgarmente a inactivação dos microrganismos é conseguida, na indústria alimentar, através de processos térmicos, com recurso a altas temperaturas. Esta técnica tem como consequência a frequente perda da qualidade, sabor e quantidade de nutrientes nos alimentos.

Assim, de forma a fazer frente aos problemas levantados pelo processo térmico, os objectivos deste trabalho consistiram em estudar o efeito da radiação de microondas em microrganismos e a possibilidade de aplicar esta radiação para esterilização evitando o aquecimento.

Ao estudar o efeito da radiação electromagnética à frequência de 2,45 GHz, em bactérias *Escherichia coli*, utilizando um forno de microondas, concluiu-se que é possível inactivar uma grande parte das bactérias, abaixo da temperatura de inactivação térmica. No entanto, o aumento de temperatura observado ainda foi significativo, pese embora o facto de se utilizarem tempos de radiação relativamente pequenos.

Uma segunda técnica foi utilizada, procurando igualmente evitar o aquecimento dieléctrico e o aumento da temperatura. Trata-se de uma cavidade ressonante à frequência de 2,45 GHz, onde o campo é extremamente polarizado. Para variar a potência introduzida na cavidade, foi a ela acoplada um forno de microondas, que serve apenas como atenuador. Colocando no seu interior diferentes cargas, que absorvem diferentes quantidades de energia, é possível ter disponível, no interior da cavidade ressonante, diversas potências de radiação.

Verificou-se que uma potência de radiação de 8 mW é muito pequena para produzir qualquer efeito bactericida. Por sua vez, potências de radiação de 80 mW e 700 mW apresentam um efeito bactericida significativo, sendo tanto mais eficaz quanto maior for a potência de radiação incidente. Conseguiu-se, desta forma, inactivar 80 % das células de *E. coli*, usando apenas 0,7 W de potência da radiação incidente, em apenas seis minutos.

Com este método, a temperatura atingida pela suspensão bacteriana foi de aproximadamente 37 °C, temperatura esta claramente inferior à temperatura de



inactivação térmica daquelas. Este facto é de realçar uma vez que esta é a temperatura óptima de crescimento das bactérias da espécie *E. Coli*, correspondendo à temperatura do corpo humano, que é o habitat natural daqueles organismos.

Foi também efectuada a caracterização eléctrica da suspensão bacteriana, usando técnicas de espectroscopia de impedâncias e de cavidade ressonante. Verificou-se que, particularmente para altas frequências, a cultura apresenta valores baixos de permitividade complexa.

O facto de estarmos na presença de uma cultura com um valor bastante baixo da parte imaginária da permitividade,  $\epsilon''$ , significa que, quando irradiada por um feixe de microondas vai aquecer muito pouco.

Os resultados obtidos são inequivocamente promissores, e indicam-nos a possibilidade de utilizar a radiação de microondas para destruir bactérias a temperaturas adequadas para preservar a qualidade dos alimentos. Embora não estejamos na presença de um método não térmico propriamente dito, uma vez que há sempre um aumento de temperatura, é interessante confirmar que não é necessário inactivar as bactérias apenas pelo aquecimento. Deve referir-se ainda que, manter a cultura de bactérias a uma temperatura absolutamente constante é na prática impossível, e também desnecessário. Podemos então acreditar na possibilidade de um processo de inactivação associado à radiação de microondas, a uma temperatura próxima de 37°C, uma vez que foi esta a temperatura atingida pela suspensão bacteriana no método da cavidade ressonante.

Para cada um dos métodos utilizados, foram utilizadas expressões matemáticas que descrevem, com fiabilidade, a taxa de mortalidade das bactérias em função do tempo de radiação.

Estes resultados indicam-nos a possibilidade de utilizar esta técnica como método alternativo aos processos térmicos comumente utilizados para a inactivação das bactérias em alimentos.

Finalmente, é de salientar que este trabalho, tendo cumprido o objectivo para o qual foi proposto, abre novas portas para investigação futura.

Em primeiro lugar no desenvolvimento de um modelo físico que explique a mortalidade das bactérias mediante a aplicação de um campo eléctrico alternado de alta frequência. Seria de facto uma boa ferramenta para ajudar a otimizar parâmetros de radiação, como por exemplo a potência e tempo de radiação, ou eventualmente o desenvolvimento de cavidades a funcionar em modos de radiação mais elevados, em vez do modo fundamental que neste trabalho foi utilizado.

Em segundo lugar, na aplicação das técnicas aqui desenvolvidas directamente em alimentos. Este é seguramente um passo fundamental para concluir da possibilidade da utilização destas técnicas a nível industrial.